

Chemische Signale tropischer Frösche

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Dennis Poth
aus Braunschweig

1. Referent: Prof. Dr. Stefan Schulz
2. Referent: Prof. Dr. Thomas Lindel
eingereicht am: 11.06.2012
mündliche Prüfung (Disputation) am: 14.09.2012

Druckjahr 2012

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen

D. Poth, K. C. Wollenberg, M. Vences, S. Schulz, Volatile amphibian pheromones: macrolides from mantellid frogs from madagascar, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 2187-2190.

A. Rodríguez, D. Poth, S. Schulz, M. Vences, Discovery of skin alkaloids in a miniaturized eleutherodactylid frog from cuba, *Biol. Lett.*, **2011**, *7*, 414-418.

Tagungsbeiträge

D. Poth, K. C. Wollenberg, M. Vences, S. Schulz, First identification of volatile pheromones in amphibians. (Poster). Irseer Naturstofftage, Irsee (**2010**).

INHALT

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	Pheromone.....	1
1.2	Amphibienpheromone.....	3
1.3	Mantellidae.....	4
1.4	Femoraldrüsen.....	6
1.5	Alkaloide.....	8
2	THEMENSTELLUNG	10
3	ERGEBNISSE	11
3.1	Flüchtige Naturstoffe aus den Mantellidae	11
3.1.1	<i>Mantidactylus multiplicatus</i>	11
3.1.1.1	Allgemeines	11
3.1.1.2	8-Methylnonan-2-ol.....	13
3.1.1.3	Phoracantholid J	15
3.1.1.4	Chirale Gaschromatographie	16
3.1.1.5	Biotest.....	19
3.1.2	<i>Gephyromantis boulengeri</i>	21
3.1.2.1	Allgemeines	21
3.1.2.2	Gephyromantolid A	23
3.1.2.3	Ringschlussmetathese	26
3.1.2.4	Chirale Gaschromatographie	30
3.1.2.5	NMR-Daten	32
3.1.3	<i>Mantidactylus femoralis</i>	34
3.1.3.1	Allgemeines	34
3.1.3.2	Phoracantholid I.....	36

3.1.3.3	Mantidactolid A	37
3.1.3.4	Chirale Gaschromatographie	43
3.1.3.5	Fragmentierungsmechanismus	44
3.1.3.6	Strukturaufklärung weiterer Verbindungen aus <i>M. femoralis</i>	45
3.1.3.7	8-Methyldecan-2-ol	48
3.1.3.8	6-Methyloctan-2-ol	50
3.1.3.9	Geographische Analyse der Femoraldrüsenextrakte	52
3.1.4	<i>Gephyromantis redimitus</i>	56
3.1.4.1	Allgemeines	56
3.1.4.2	NMR-Auswertung	57
3.1.4.3	Gephyromantolid B	61
3.1.5	Vergleichende Analysen der Inhaltsstoffe der Femoraldrüsenextrakte der Mantellidae	63
3.1.5.1	Allgemeines	63
3.1.5.2	Vorkommen von flüchtigen Verbindungen	65
3.1.5.3	Unbekannte Verbindungen	66
3.1.5.4	<i>Heterixalus</i>	70
3.1.5.5	Konzentrationsunterschiede	72
3.2	Alkaloide	73
3.2.1	Allgemeines	73
3.2.2	<i>Eleutherodactylus iberia</i>	74
3.2.3	Eleutherodactylidae	77
4	ZUSAMMENFASSUNG	80
5	EXPERIMENTELLER TEIL	84
5.1	Allgemeines	84
5.2	Derivatisierung mit <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilyltrifluoroacetamid (MSTFA)	84
5.3	Synthesen	85

5.3.1	Darstellung von 4-Methylbenzenesulfonsäurehex-5-enylester (11).....	85
5.3.2	Darstellung von 8-Methylnon-1-en (12).....	85
5.3.3	Darstellung von 8-Methylnonan-2-on (13).....	86
5.3.4	Darstellung von 8-Methylnonan-2-ol (rac-9).....	87
5.3.5	Darstellung von Essigsäure-(<i>R</i>)-8-methylnonan-2-ylester (14).....	88
5.3.6	Darstellung von (<i>R</i>)-8-Methylnonan-2-ol (9)	88
5.3.7	Darstellung von (<i>S</i>)-8-Methylnonan-2-ol (9).....	89
5.3.8	Darstellung von (<i>S</i>)-Hept-6-en-2-ol (16)	89
5.3.9	Darstellung von (<i>S</i>)-5-Hydroxyhexanal (18)	90
5.3.10	Darstellung von (9 <i>S</i> ,4 <i>Z</i>)-9-Hydroxydec-4-ensäure (19)	91
5.3.11	Darstellung von (<i>S</i>)-Phoracantholid J (15)	92
5.3.12	Darstellung von (<i>S</i>)-Phoracantholid I (20).....	93
5.3.13	Darstellung von 2-Methylhept-6-ensäureethylester.....	93
5.3.14	Darstellung von 2-Methyl-6-oxoheptansäureethylester (22)	94
5.3.15	Darstellung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäureethylester	95
5.3.16	Darstellung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäure (23)	95
5.3.17	Darstellung von 2-Methylhex-5-ensäuremethylester.....	96
5.3.18	Darstellung von 2-Methylhex-5-en-1-ol (24)	96
5.3.19	Darstellung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäure-2-methylhex-5-enylester (26)	97
5.3.20	Darstellung von (<i>E</i>)-3,7,11-Trimethyloxacyclododec-7-en-2-on (27)	98
5.3.21	Darstellung von 5-Brompentansäureethylester.....	98
5.3.22	Darstellung von 6-Methylhept-6-ensäureethylester (31)	99
5.3.23	Darstellung von 6-Methylhept-6-ensäure	100
5.3.24	Darstellung von 6-Methylhept-6-ensäurechlorid	100
5.3.25	Darstellung von (<i>S</i>)-3-(6-Methylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (32).....	101
5.3.26	Darstellung von (2' <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-3-(2,6-Dimethylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (33)..	102

5.3.27	Darstellung von (<i>S</i>)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure (28)	103
5.3.28	Darstellung von Hex-5-ensäurechlorid	103
5.3.29	Darstellung von (<i>R</i>)-3-(Hex-5-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on	104
5.3.30	Darstellung von (2` <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-3-(2-Methylhex-5-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (34) ...	104
5.3.31	Darstellung von (<i>R</i>)-2-Methylhex-5-en-1-ol (29)	105
5.3.32	Darstellung von (<i>S</i>)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure-(<i>R</i>)-2-methylhex-5-enylester (35) .	106
5.3.33	Darstellung von Gephyromantolid A (27)	107
5.3.34	Darstellung von (<i>Z</i>)-3,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2 <i>H</i> -oxecin-2-on (43)	108
5.3.35	Darstellung von 3,10-Dimethyloxecan-2-on (40)	108
5.3.36	Darstellung von 3,6-Dimethyltetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-on (45)	109
5.3.37	Darstellung von 3,6-Dimethyltetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-ol (46)	109
5.3.38	Darstellung von 5-Methylhept-6-en-2-ol (47)	110
5.3.39	Darstellung von Pent-4-ensäure-5-methylhept-6-en-2-ylester (48)	111
5.3.40	Darstellung von (<i>Z</i>)-7,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2 <i>H</i> -oxecin-2-on (49)	112
5.3.41	Darstellung von 7,10-Dimethyloxecan-2-on (41)	112
5.3.42	Darstellung von 4-Methylpent-4-ensäureethylester (51)	113
5.3.43	Darstellung von 4-Methylpent-4-ensäure (52)	113
5.3.44	Darstellung von Hept-6-en-2-ol (53)	114
5.3.45	Darstellung von 4-Methylpent-4-ensäurehept-6-en-2-ylester (54)	114
5.3.46	Darstellung von (<i>Z</i>)-5,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2 <i>H</i> -oxecin-2-on (55)	115
5.3.47	Darstellung von 5,10-Dimethyloxecan-2-on (42)	115
5.3.48	Darstellung von 2,2-Dimethyl-3-((<i>S</i>)-3-methylpent-4-enyl)oxiran (57)	115
5.3.49	Darstellung von (<i>S</i>)-4-Methylhex-5-enal (58)	116
5.3.50	Darstellung von (<i>S</i>)-4-Methylhex-5-ensäure (59)	117
5.3.51	Darstellung von (<i>S</i>)-Hex-5-en-2-ol (60)	118
5.3.52	Darstellung von (<i>S</i>)-4-Methylhex-5-ensäure-(<i>S</i>)-hex-5-en-2-ylester (62)	118

5.3.53	Darstellung von (5 <i>S</i> ,10 <i>S</i> , <i>Z</i>)-5,10-Dimethyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2 <i>H</i> -oxecin-2-on (63)	119
5.3.54	Darstellung von (5 <i>R</i> ,10 <i>S</i>)-5,10-Dimethyloxecan-2-on (42) ^[S7]	120
5.3.55	Darstellung von 7-Methyloctan-2-ol (65)	121
5.3.56	Darstellung von 1-Brom-3-methylpentan (67)	121
5.3.57	Darstellung von 6-Methyloctan-2-ol (68)	122
5.3.58	Darstellung von (<i>S</i>)-4-Benzyl-3-butyryloxazolidin-2-on	122
5.3.59	Darstellung von (<i>S</i>)-4-Benzyl-3-((<i>S</i>)-2-methylbutanoyl)oxazolidin-2-on (71)	123
5.3.60	Darstellung von (<i>S</i>)-2-Methylbutan-1-ol	123
5.3.61	Darstellung von 4-Methylbenzolsulfonsäure-(<i>S</i>)-2-methylbutylester (72)	124
5.3.62	Darstellung von (<i>S</i>)-8-Methyldec-1-en (73)	124
5.3.63	Darstellung von (<i>S</i>)-8-Methyldecan-2-on (74)	125
5.3.64	Darstellung von (<i>S</i>)-8-Methyldecan-2-ol (2 <i>SR</i> ,8 <i>S</i> -69)	125
5.3.65	Darstellung von Essigsäure-(2 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-8-methyldecan-2-ylester (75)	126
5.3.66	Darstellung von (2 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)-8-Methyldecan-2-ol (2 <i>S</i> ,8 <i>S</i> -69)	127
5.3.67	Darstellung von (2 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-8-Methyldecan-2-ol (2 <i>R</i> ,8 <i>S</i> -69)	127
5.3.68	Darstellung von (<i>S</i>)-3-Methylpentannitril (76)	128
5.3.69	Darstellung von (<i>S</i>)-3-Methylpentansäure (77)	128
5.3.70	Darstellung von (<i>S</i>)-3-Methylpentan-1-ol (78)	129
5.3.71	Darstellung von 4-Methylbenzolsulfonsäure-(<i>S</i>)-3-methylpentylester	129
5.3.72	Darstellung von (<i>S</i>)-1-Brom-3-methylpentan (79)	130
5.3.73	Darstellung von (2 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-6-Methyloctan-2-ol (2 <i>S</i> ,8 <i>S</i> -68)	131
5.3.74	Darstellung von 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propansäureethylester (82)	131
5.3.75	Darstellung von 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propan-1-ol (83)	132
5.3.76	Darstellung von 2-(1-Iodopropan-2-yl)-2-methyl-1,3-dioxolan (84)	132
5.3.77	Darstellung von 2,2'-(Hexan-2,5-diyl)bis(2-methyl-1,3-dioxolan) (85)	133
5.3.78	Darstellung von 3,6-Dimethyloctan-2,7-dion (86)	134

5.3.79	Darstellung von 7-Hydroxy-3,6-dimethyloctan-2-on (80)	134
5.3.80	Darstellung von 3,6,7-Trimethyloct-7-en-2-ol (87).....	135
5.3.81	Darstellung von Pent-4-ensäure-3,6,7-trimethyloct-7-en-2-ylester (88)	136
5.3.82	Darstellung von (Z)-6,7,10,11-Tetramethyloxacycloundec-5-en-2-on (89)	137
6	LITERATUR	138
7	ABKÜRZUNGEN	143
8	ANHANG	145
8.1	NMR-Spektren der natürlichen Verbindungen	145
8.2	NMR-Spektren der synthetischen Zielmoleküle	153
8.3	Tabelle der identifizierten Verbindungen aus den Mantellidae (CD)	

1 EINLEITUNG

1.1 Pheromone

Pheromone sind Signalstoffe, die von vielen Lebewesen zur intraspezifischen Kommunikation genutzt werden^[1]. Sie gehören zu den Semiochemikalien^[2] und sind als Verbindungen klassifiziert, die nach ihrer Abgabe an die Umwelt von anderen Individuen der gleichen Art wahrgenommen werden und das Verhalten dieses Empfängers modifizieren^[3]. Besonders bei Insekten, welche die artenreichste Klasse im Tierreich darstellen, konnten die Pheromone vieler Arten aufgeklärt und getestet werden. Besonders gut untersucht sind nachtaktive Schmetterlinge, deren Sexualpheromone sehr oft langkettige, ungesättigte Verbindungen mit terminaler Alkohol, Aldehyd oder Acetatgruppe sind^[4]. Ein Beispiel ist (Z)-11-Tetradecenylacetat (**1**), das von über 100 Nachtfalterarten verwendet wird. Die Männchen eines Tagfalters (des großen Kohlweißlings, *Pieris brassicae*) verwenden Brassicalacton (**2**) als Sexuallockstoff um die Weibchen von ihrer Fruchtbarkeit zu überzeugen^[5]. Auch die Struktur des Sexualpheromons der Australischen Rotrückenspinne, *Latrodectus hasselti*, konnte aufgeklärt werden^[6]. Es handelt sich dabei um einen unsymmetrisch diacylierten Serinmethylester (**3**).

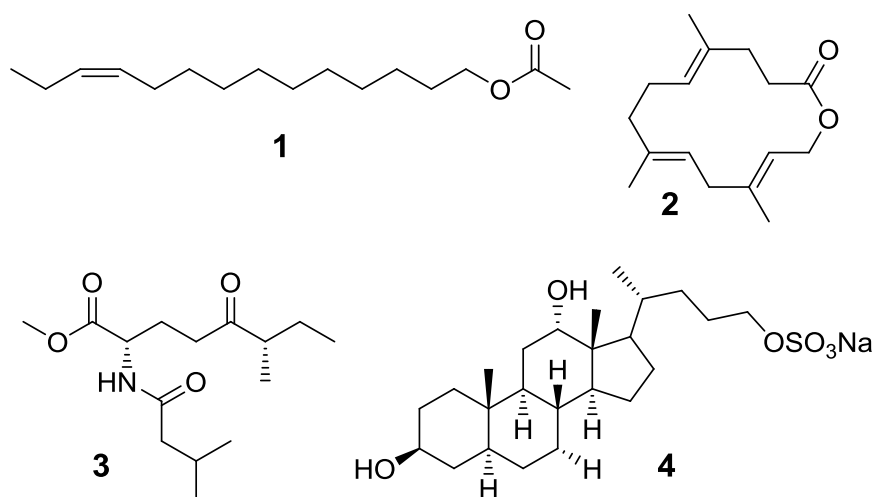


Abbildung 1: Strukturen verschiedener Pheromone: **1**) (Z)-11-Tetradecenylacetat aus Nachfaltern; **2**) Brassicalacton aus *Pieris brassicae*; **3**) Serinderivat aus *Latrodectus hasselti*; **4**) Petromyzonolsulfat aus *Petromyzon marinus*

Aber auch bei anderen Organismen wie Pflanzen^[7], Mikroorganismen^[8] und Fischen^[9] konnten schon viele Pheromone identifiziert werden. Der Nachweis von Pheromonen in höheren Lebewesen wie Fischen, Reptilien oder Amphibien ist jedoch oft schwieriger, da diese Tiere komplexere Verhaltensmuster aufweisen und häufig mehrere sensorische Kanäle zusammenwirken müssen, um eine Verhaltensänderung zu erreichen^[10]. Dies macht die entsprechenden Biotests schwierig und aufwendig. Dennoch konnten auch bei diesen Organismengruppen schon einige Pheromone aufgeklärt werden. Die parasitär lebenden Meereneunaugen, *Petromyzon marinus*, müssen zur Eiablage in Frischwasserflüsse zurückkehren und benutzen zur Orientierung ein Pheromon^[9]. Dieses besteht aus einem Gemisch verschiedener Steroidderivate, wie Petromyzonolsulfat (**4**).

Auch bei Amphibien ist die pheromonale Kommunikation nicht unbedeutend. Einige Beispiele für strukturell bereits aufgeklärte Amphibienpheromone werden im folgenden Kapitel besprochen.

1.2 Amphibienpheromone

Die Kommunikation bei Amphibien geschieht hauptsächlich über akustische, optische und taktile Signale. Besonders Frösche kommunizieren durch ihr charakteristisches Rufen schon über große Entfernungen. Auf kurze Distanz kann die Arterkennung über optische Merkmale, wie auffällige Farbmarkierungen und Muster, und die Färbung und Ausformung der Schallblase erfolgen. Jedoch konnte gezeigt werden, dass auch die chemische Kommunikation über Pheromone eine Rolle spielt^[11-13]. Manche dieser Pheromone wurden schon in Fröschen, Molchen oder Salamandern charakterisiert. Bei ihnen handelt es sich um polare, leicht wasserlösliche Peptide oder Proteine^[13,14]. So lockt das Männchen des Australischen Baumfrosches, *Litoria splendida*, das Weibchen durch das aus 25 Aminosäuren bestehende Peptid Splendipherin an, welches sich auf der Wasseroberfläche ausbreitet^[15,16]. Auch der Rotbeinige Salamander, *Plethodon shermani*, und andere verwandte Arten nutzen Proteine als Balzpheromone^[17,18]. Das Sexpheromon des Koreanischen Salamanders, *Hynobius leechii*, wurde als Prostaglandin $F_{2\alpha}$ identifiziert. Hierbei handelt es sich ausnahmsweise nicht um ein Peptid, sondern um ein Gewebshormon, das vom Weibchen ins Wasser abgegeben wird^[19]. Auch die männlichen Feuerbauchmolche (*Cynops*) geben 10 Aminosäuren große Peptide, wie Sodefrin und Silefrin, ins Wasser ab, um Weibchen anzulocken^[20,21].

Neben diesen nicht flüchtigen Pheromonen, die meist ins Wasser abgegeben werden, gibt es auch flüchtige Verbindungen auf die Frösche reagieren können. Es konnte am Beispiel des aus Neuseeland stammenden Hamilton-Frosches, *Leiopelma hamiltoni*, gezeigt werden, dass er von sich selbst markierte Papiertücher denen von Fröschen aus anderen Fundorten als Sitzfläche vorzog. Dabei konnten die Frösche die Papiertücher nicht nur durch ihren Duft markieren, sondern auch von dem der anderen Individuen unterscheiden^[22]. Auch die australischen Bibronkrötchen, *Pseudophryne bibronii*, können zwischen männlichen und weiblichen Düften unterscheiden und passen entsprechend ihr Verhalten an. Die genaue chemische Zusammensetzung dieser flüchtigen Verbindungen ist dabei noch unbekannt^[23].

1.3 Mantellidae

Die lebenden Amphibien lassen sich in drei große Gruppen unterteilen. Die größte ist die der Frösche (Anura) mit über 5400 bekannten Arten. Daneben gibt es noch die Salamander (Urodela, ca. 560 Arten) und die Schleichenlurche (Gymnophiona, ca. 170 Arten). Von diesen drei Gruppen kommen nur Vertreter der Anura auf Madagaskar vor^[24]. Da Salamander hauptsächlich nördlich des Äquators auftreten, ist ihre Abwesenheit auf Madagaskar nicht überraschend. Das Fehlen der Schleichenlurche ist jedoch verwunderlich, denn sie sind auch in Afrika, Indien und sogar den Seychellen anzutreffen^[25].

Madagaskar besitzt eine außergewöhnliche Amphibienfauna, da 100 % der dort heimischen Arten endemisch sind. Damit wird Madagaskar mit über 250 beschriebenen Amphibienarten nur von Brasilien, Kolumbien und Mexiko übertroffen, wo es mehr endemische Arten gibt^[26,27]. Besonders in den letzten Jahrzehnten wurden viele neue Arten entdeckt, wie z.B. *Mantidactylus kathrinae* (heute benannt als *Guibemantis kathrinae*) im Jahr 2000^[28]. Neue molekulargenetische Untersuchungen von VENCES et al. zeigten, dass die genetische Diversität bei den auf Madagaskar vorkommenden Amphibien noch größer ist als angenommen^[29]. So konnten durch diese Untersuchungen über 150 noch nicht beschriebene oder klassifizierte Arten identifiziert werden.

Die meisten Frösche auf Madagaskar können in die drei Familien Hyperoliidae, Mantellidae und Microhylidae aufgeteilt werden. Die kleinste dieser Familien ist die der Hyperoliidae, von der nur 11 Arten auftreten. Diese gehören zur Gattung *Heterixalus*, die endemisch auf Madagaskar ist. Andere Vertreter dieser Familie leben in Afrika und auf den Seychellen. Die zweitgrößte Familie sind die Microhylidae, welche in Madagaskar von den Unterfamilien der Cophylinae, Scaphiophryninae und Dycophinae gebildet wird. Diese Familie ist in den meisten tropischen Regionen der Welt verbreitet und von den über 400 beschriebenen Arten kommen etwa 50 Arten auf Madagaskar vor. Die artenreichste Amphibienfamilie auf Madagaskar sind die nur dort vorkommenden Madagaskarfrösche (Mantellidae). Sie wird in die drei Unterfamilien Laliostominae, Boophinae und Mantellinae unterteilt (s. Abb. 2)^[30].

Die Unterfamilie der Laliostominae ist mit nur zwei Gattungen und insgesamt weniger als zehn beschriebenen Arten klein. Die zur Unterfamilie der Boophinae zählenden Baumfrösche der Gattung *Boophis* sind etwas zahlreicher und über alle Lebensräume der Insel Madagaskar verbreitet.

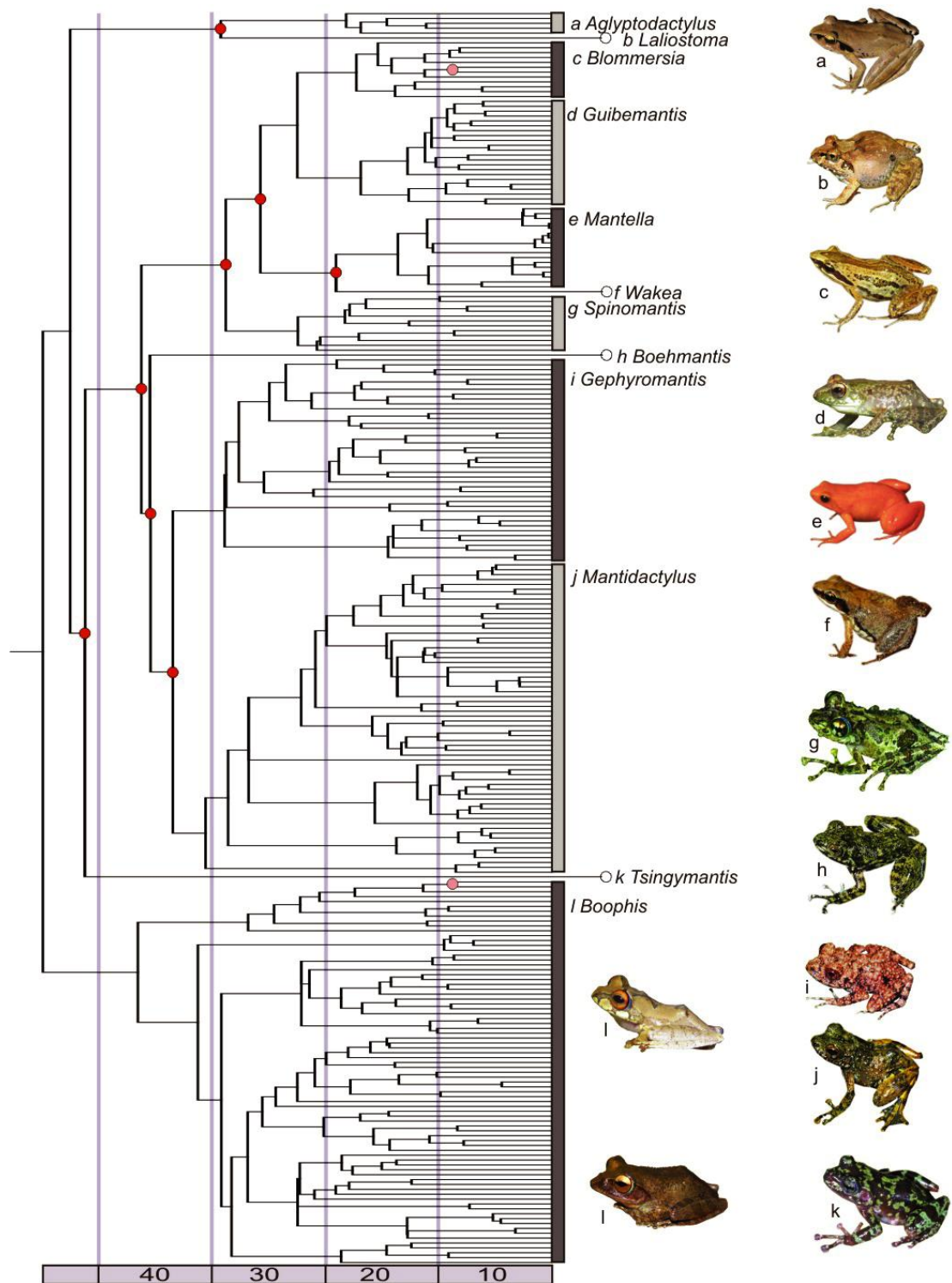


Abbildung 2: Stammbaum der Mantelliden mit exemplarischen Bildern eines Vertreters jeder Gattung^[30].

Die größte Artenvielfalt tritt in der Unterfamilie der Mantellinae auf. Mit *Mantidactylus grandidieri* (Körperlänge 120 mm) und *Wakea madidika* (Körperlänge bis 11 mm) gehören einige der größten bzw. kleinsten Frösche Madagaskars zu den Mantellinae. Auch die Lebensräume ihrer Vertreter sind sehr verschieden. Gattungen wie *Guibemantis* und *Spinomantis* sind Baumfrösche, die ihren Lebensraum hauptsächlich in den hohen Bäumen des Regenwaldes haben, wohingegen die Gattung *Mantidactylus* in den Flüssen und Bächen des Regenwaldes anzutreffen ist. *Gephyromantis* kommt in Gebieten im Regenwald auch ohne Zugang zu Wasserquellen vor. Allgemein wird beobachtet, dass alle Arten ihre Eier außerhalb des Wassers ablegen. Ein weiteres außergewöhnliches Merkmal vieler Arten dieser Unterfamilie ist die Ausbildung von Femoraldrüsen, die wahrscheinlich in Zusammenhang mit der ungewöhnlichen Fortpflanzungsmethode stehen. Sie zeichnet sich dadurch aus, dass es zu keiner Klammerung (Amplexus) kommt und das Männchen sich nur lose auf dem Rücken des Weibchens positioniert. Dabei berührt das Männchen mit den Hinterschenkeln den Rücken des Weibchens und überträgt so möglicherweise die in den Drüsen enthaltenen Verbindungen.

1.4 Femoraldrüsen

Amphibien sind dafür bekannt multizelluläre Drüsen wie Schleimdrüsen oder Giftdrüsen zu besitzen^[31]. Die Schleimdrüsen geben Mucoproteine ab, welche die Haut benetzen und sie feucht halten^[32]. Giftdrüsen können eine Vielzahl von toxischen Verbindungen absondern, die als Abwehr gegen Krankheitserreger oder Fressfeinde dienen.

Die Frösche aus der Unterfamilie der Mantellinae verfügen über Drüsengebilde am Hinterbein, die als Femoraldrüsen bezeichnet werden^[33]. Bei diesen Drüsen handelt es sich um einen Zusammenschluss von vielen kleinen, granularen Drüsen. Sie befinden sich auf der Unterseite der Hinteroberschenkel und heben sich durch ihre Form und Farbe meist vom umgebenden Gewebe ab. Ähnliche Organe sind bei Fröschen außerhalb Madagaskars nur von den Petropedetidae aus Afrika, den Ranixalidae und den Nyctibatrachidae aus Indien bekannt^[24]. Diese Arten sind aber sowohl untereinander als auch mit den Mantellinae nicht verwandt.

Bei den Mantellinae treten diese Drüsen fast ausschließlich bei Männchen auf. Nur die Weibchen einiger *Mantidactylus* Arten haben auch Drüsen, die aber kleiner ausfallen und

wahrscheinlich nicht funktionsfähig sind. In Abbildung 3 sind exemplarisch die Femoraldrüsen von vier verschiedenen Arten dargestellt.

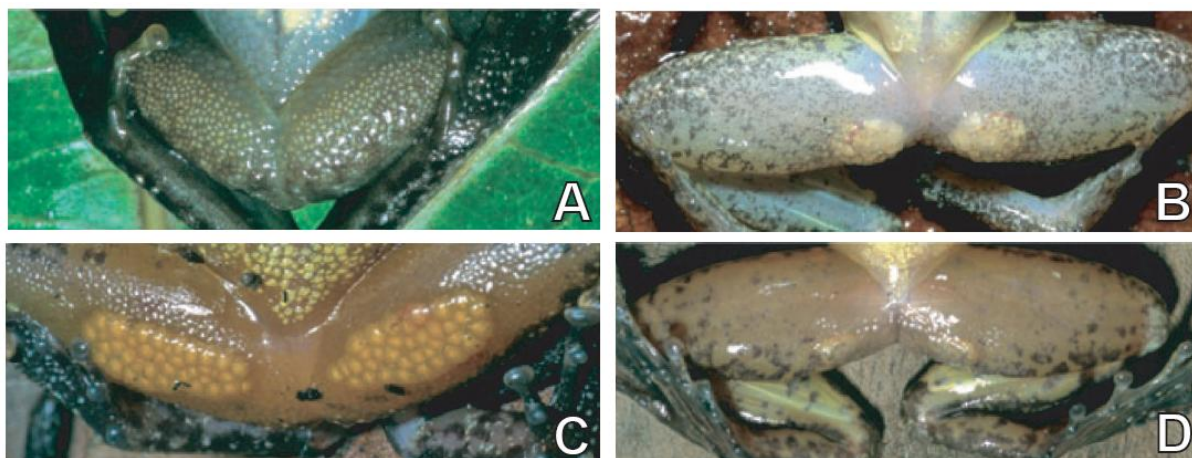


Abbildung 3: Femoraldrüsen von verschiedenen Mantelliden: A) *Guibemantis liber*, B) *Mantidactylus multiplicatus*, C) *Gephyromantis pseudoasper*, D) *Mantidactylus femoralis*^[33].

Die Drüsen können anhand ihrer Ausformungen und Anordnung in vier Klassen unterteilt werden^[34]. Die Drüsen des Typs 1 werden durch eine große Anzahl kleiner Körnchen gebildet, welche sich zu einem rosettenähnlichen Verband zusammenschließen (A). Sie treten nur in den *Guibemantis* Arten auf. Die Drüsen des Typs 2 können unter anderem bei den Arten aus den Gattungen *Spinomantis* und *Gephyromantis* beobachtet werden (C). Das Drüsengebilde wird von vielen Körnchen moderater Größe gebildet, welche sich deutlich vom umliegenden Gewebe abgrenzen. Die Drüsen des Typs 3 und 4 sind sich sehr ähnlich. Es handelt sich bei beiden um dicht gepackte Drüsenverbände, die groß und deutlich zu erkennen sind (B,D). Bei beiden Typen ist in der Mitte des Drüsenclusters eine zentrale Drüsenöffnung zu erkennen. Sie unterscheiden sich dadurch, dass sich beim Typ 3 noch ein weiterer loser Verband von Drüsenkörnchen an das eigentliche Cluster anschließt, welcher beim Typ 4 nicht auftritt. Femoraldrüsen des Typs 3 kommen unter anderem in *Brygoomantis* und *Chonomantis* vor. Alle Arten von *Mantidactylus* bilden Drüsen in Form des Typs 4 aus. Da diese Arten semi-aquatisch leben, kann die Ausbildung dieser spezialisierten Drüsen eine Anpassung an ihren Lebensraum sein, die eine gezielte Abgabe der in den Drüsen enthaltenen Stoffe ermöglicht. Über die Art und die Zusammensetzung der in den Drüsen enthaltenen Verbindungen konnte bislang nur spekuliert werden. Es wurde aufgrund des ungewöhnlichen Paarungsverhaltens der Mantelliden angenommen, dass es sich bei den in den Drüsen enthaltenen Verbindungen um Pheromone handelt, die das Weibchen zur Eiablage anregen^[24].

1.5 Alkaloide

Die Haut spielt eine entscheidende Rolle im Überleben der Amphibien. Sie erfüllt neben den Funktionen der Atmung, der Regulation des Wasserhaushaltes und der Temperatur auch die Funktion der Abwehr gegen Fressfeinde, Bakterien und Pilze^[32]. Die Alkaloidspeicherung in der Haut war bisher von vier phylogenetisch unabhängigen Froschgruppen bekannt^[35]. Es konnte eine Vielzahl von Alkaloiden in mehreren Gattungen der Familie der südamerikanischen Pfeilgiftfrösche, Dendrobatidae, nachgewiesen werden. Auch die in Südamerika vorkommenden Kröten der Gattung *Melanophryniscus* und die in Australien beheimatete Gattung *Pseudophryne* enthalten Alkaloide. Außerdem speichern auch Frösche der Gattung *Mantella*, die zur Familie der Madagaskarfröschen gehören, Alkaloide^[36]. Eine genaue Untersuchung zur Aufnahme von Alkaloiden bei verschiedenen Arten der Gattung *Mantella* zeigte, dass das Vorkommen und die Konzentration der Alkaloide geographischen Variationen unterliegt^[31]. Da sich diese Frösche hauptsächlich von Milben, Ameisen und Springschwänzen ernähren, welche die Quelle der Alkaloide sind, hängt das Alkaloidprofil mit dem sich an den Fundorten unterscheidenden Futterangebot zusammen^[37]. Es konnte auch gezeigt werden, dass in Gefangenschaft gezüchtete *Mantella aurantiaca* von sich aus keine Alkaloide produzieren^[38]. Wurden diese Tiere jedoch mit Fruchtfliegen gefüttert, welche mit Alkaloiden bestäubt waren, so wurden die Verbindungen aufgenommen und in der Haut gespeichert. Dies weist daraufhin, dass die bekannten Giftfrösche durch ein spezialisiertes Alkaloidaufnahme und –speichersystem die Alkaloide aus ihrer Nahrung aufnehmen können. Die einzige bekannte Ausnahme dazu stellt die australische Gattung *Pseudophryne* dar, die neben der Aufnahme von Alkaloiden aus dem Futter auch selbst Alkaloide der Klasse Pseudophrynamine produzieren kann. Ein Beispiel dafür ist Pseudophrynamin 286A (**5**) (s. Abb. 4)^[39].

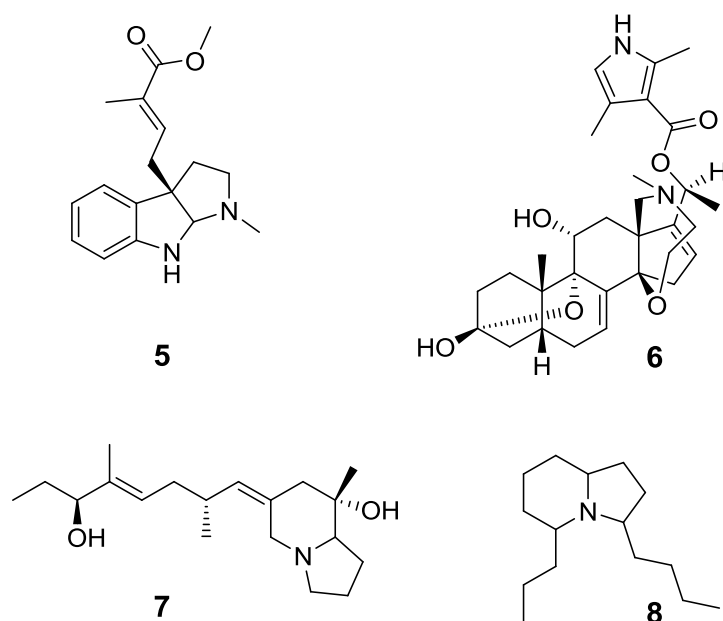


Abbildung 4: Strukturen verschiedener Froschalkaloide: **5)** Pseudophrynamin 286A; **6)** Batrachotoxin; **7)** Pumiliotoxin A; **8)** Indolizidin 223AB

Ein bekanntes Froschalkaloid ist das Steroid Batrachotoxin (**6**), welches zuerst in *Phyllobates aurotaenia* aus Kolumbien entdeckt wurde^[40]. Es ist das giftigste bekannte Steroid-Alkaloid und wirkt im Körper durch eine dauerhafte Aktivierung der Natriumkanäle als Krampfgift^[41]. Eine weitere Klasse von Alkaloidgiften aus den Dendrobatidae sind die Pumiliotoxine. Pumiliotoxin A (**7**) wurde zuerst 1967 in *Dendrobatis pumilio* aus Panama entdeckt^[42]. Die genaue Struktur konnte erst einige Jahre später aufgeklärt werden, da durch Röntgenstrukturanalyse des verwandten Pumiliotoxin 251D der Aufbau des Grundgerüsts der Pumiliotoxine entdeckt wurde^[43]. Die Indolizidine sind eine weit verbreitete Alkaloidklasse, die hauptsächlich in der Haut von *Dendrobates*, aber auch bei *Mantella* und *Melanophryniscus*, vorkommen. Indolizidin 223AB (**8**) konnte zuerst in *Dendrobates histrionicus* nachgewiesen und anhand der massenspektrometrischen Daten einer Struktur zugewiesen werden^[44]. Diese konnte anschließend durch Synthese bestätigt werden^[45].

Im Gegensatz zu den in Abbildung 4 gezeigten Beispielen konnte die Struktur der meisten der über 800 beschriebenen Froschalkaloide noch nicht bewiesen werden. Die aus den massenspektrometrischen Daten abgeleiteten Strukturen ermöglichen zwar eine klare Klassifizierung der Alkaloide, jedoch ist bei vielen dieser Verbindungen die absolute Konfiguration noch unbekannt und ihre Konstitution weder durch NMR-Spektroskopie noch durch Synthese bewiesen.

2 THEMENSTELLUNG

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist die Identifizierung und Strukturaufklärung von neuen Naturstoffen aus den Femoraldrüsenextrakten verschiedener Arten der Madagaskarfrösche. Dazu sollten die von meinem Kooperationspartner Prof. M. Vences zur Verfügung gestellten Proben mit spektrometrischen und spektroskopischen Methoden untersucht werden. Anhand der so gewonnenen Daten sollten Strukturvorschläge für verschiedene Naturstoffe gemacht werden, welche dann durch Synthese überprüft wurden. Anschließend sollten durch stereoselektive Totalsynthesen die entsprechenden Verbindungen enantiomerenrein hergestellt werden. Darüber hinaus musste die absolute Konfiguration der Naturstoffe mit chiralen gaschromatographischen Methoden bestimmt werden.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit sollte der Nachweis und die Identifizierung von Alkaloiden in der Haut der kubanischen *Eleutherodactylus* Frösche sein. Diese in Kooperation mit Prof. M. Vences und Dr. A. Rodríguez durchgeführten Untersuchungen sollten zeigen, ob auch diese Froschgattung Alkaloide in ihrer Haut speichern kann. Dazu mussten die Hautextrakte durch gaschromatographisch-massenspektrometrische Methoden analysiert werden.

3 ERGEBNISSE

3.1 Flüchtige Naturstoffe aus den Mantellidae

3.1.1 *Mantidactylus multiplicatus*

3.1.1.1 Allgemeines

Mantidactylus multiplicatus ist ein in den mittleren Höhen des Regenwalds im östlichen Teil Madagaskars weit verbreiteter Frosch. Die Männchen erreichen eine Größe von 23-38 mm, die Weibchen 28-35 mm. Die Männchen sind meist hellbraun mit dunkelbraunen Punkten und die Weibchen etwas dunkler gefärbt (s. Abb. 5). Ein charakteristisches Merkmal dieser Art ist die Ausbildung eines weißen Punktes auf der Spitze der Schnauze.



Abbildung 5: Männchen (rechts) und Weibchen (links) von *Mantidactylus multiplicatus*.
Foto: M. Vences

Ihr natürlicher Lebensraum im Regenwald ist die Umgebung langsam fließender Flüsse und vorwiegend sumpfiger Gebiete. Die Männchen rufen hauptsächlich während der Nacht, aber auch während des Tages von Positionen auf dem Boden aus. Ihre Rufe sind dabei lang und von schnell gepulsten Tönen gekennzeichnet^[24].

Um die chemische Kommunikation dieser Art genauer zu untersuchen, wurden die Femoraldrüsen der Tiere entfernt und in Dichlormethan eingelegt. Der so erhaltene Extrakt wurde dann aufkonzentriert und gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. Ein charakteristisches Chromatogramm ist in Abbildung 6 dargestellt.

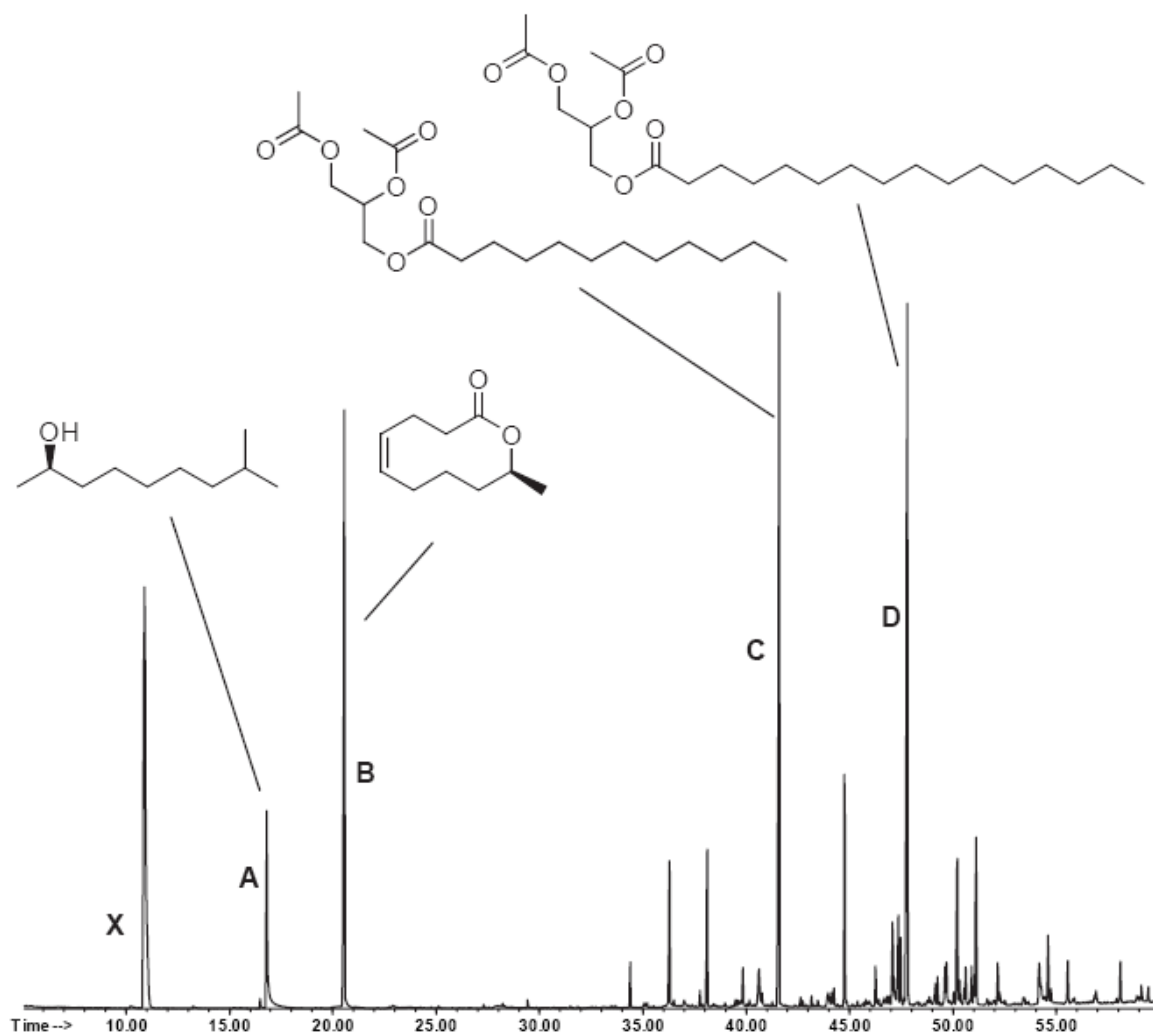


Abbildung 6: Gaschromatogramm eines Dichlormethanextrakts einer Femoraldrüse von *Mantidactylus multiplicatus*. Zwei flüchtige Hauptkomponenten **A** und **B** begleitet von einer komplexen Mischung von weniger flüchtigen Glyceriden. **C**: 3-(Dodecanoyloxy)propan-1,2-diyl diacetat, **D**: 3-(Palmitoyloxy)propan-1,2-diyl diacetat, **X**: Artefakt.

Hier ist zu erkennen, dass im Bereich der flüchtigen Verbindungen von 0-35 Minuten drei Verbindungen in hoher Konzentration auftreten. Bei Verbindung **X** handelt es sich um ein Artefakt. 4,4,4-Trichlorbutanol wird als Narkotikum bei der Präparation der Frösche verwendet und tritt so in fast allen Drüsenextrakten als Bestandteil auf.

3.1.1.2 8-Methylnonan-2-ol

Verbindung **A** wurde zunächst anhand ihres Massenspektrums die Struktur von 2-Decanol zugeordnet. Eine Überprüfung durch den Vergleich mit synthetischem Material in einem Koinjektionsexperiment widerlegte jedoch diesen Strukturvorschlag. Durch den Vergleich der Retentionszeit des Naturstoffes mit den Retentionszeiten der Alkane in dem als Standard verwendeten Alkanraster konnte der Retentionsindex (RI) berechnet werden. Dieser Wert ist im Gegensatz zur Retentionszeit für jeden Stoff unabhängig von dem bei der Gaschromatographie verwendeten Temperaturprogramm charakteristisch. 2-Decanol besitzt einen RI von 1210, die Verbindung **A** von 1168. Nach einem von SCHULZ entwickelten Verfahren lässt sich eine Verzweigungsposition nach einem Inkrementsystem mit der Formel $RI_{\text{calc}} = FG + n \cdot 100 + ME$ abschätzen^[46]. Dabei ist FG ein Inkrement für die funktionelle Gruppe (FG für sekundäre Alkohole = 209), n die Anzahl der C-Atome in der Kette und ME ein positionsabhängiges Inkrement für Methylverzweigungen. So ergeben sich die folgenden Werte für 2-Decanol ($RI_{\text{calc}} = 1209$) und 8-Methylnonan-2-ol ($RI_{\text{calc}} = 1169$). Anhand des für den Naturstoff berechneten Retentionsindex wurde nun 8-Methylnonan-2-ol als Zielstruktur vorhergesagt. Die Struktur konnte dann durch den Vergleich der Massenspektren und des Retentionsindex mit synthetischem Material bestätigt werden (s. Abb. 7).

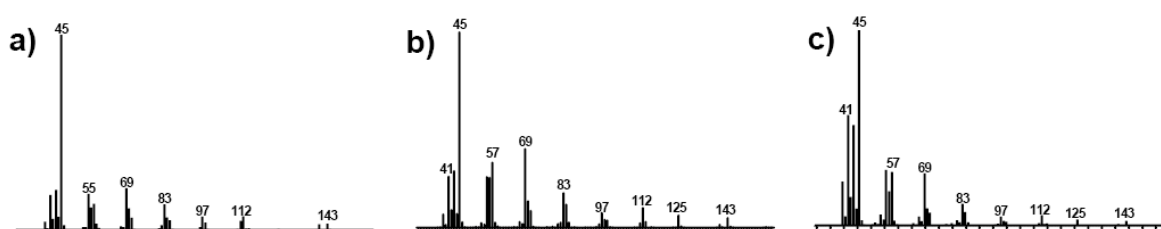


Abbildung 7: Massenspektren der Alkohole: a) 2-Decanol, b) natürliches 8-Methylnonan-2-ol, c) synthetisches 8-Methylnonan-2-ol.

Die Synthese von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (**9**) wurde wie in Abbildung 8 gezeigt durchgeführt. Im ersten Schritt wurde 5-Hexen-1-ol (**10**) in das entsprechende Tosylat (**11**) überführt. Dieses konnte dann unter Lithiumchlorocuprat Katalyse mit Isobutylmagnesiumbromid zum Olefin **12** gekuppelt werden. Eine anschließende Wacker-Oxidation führte zum Keton **13**.

Nach Reduktion mit LAH wurde racemisches 8-Methylnonan-2-ol (**rac-9**) erhalten. Die Isomere wurden durch eine enzymatische Racematspaltung mit Amano Lipase PS getrennt. Es ist bekannt, dass dieses Enzym vorwiegend das (*R*)-Enantiomer in das entsprechende Acetat **14** überführt^[47], das (*S*)-Enantiomer jedoch nicht. Durch Verseifung des Essigsäure- (*R*)-8-methylnonan-2-ylesters (**15**) wurde das gewünschte (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (**9**) mit gutem Enantiomerenüberschuss (ee = 90 %) erhalten. Das zurückgebliebene (*S*)-8-Methylnonan-2-ol hatte einen ee von 62 % (s. Abschnitt 3.1.1.4).

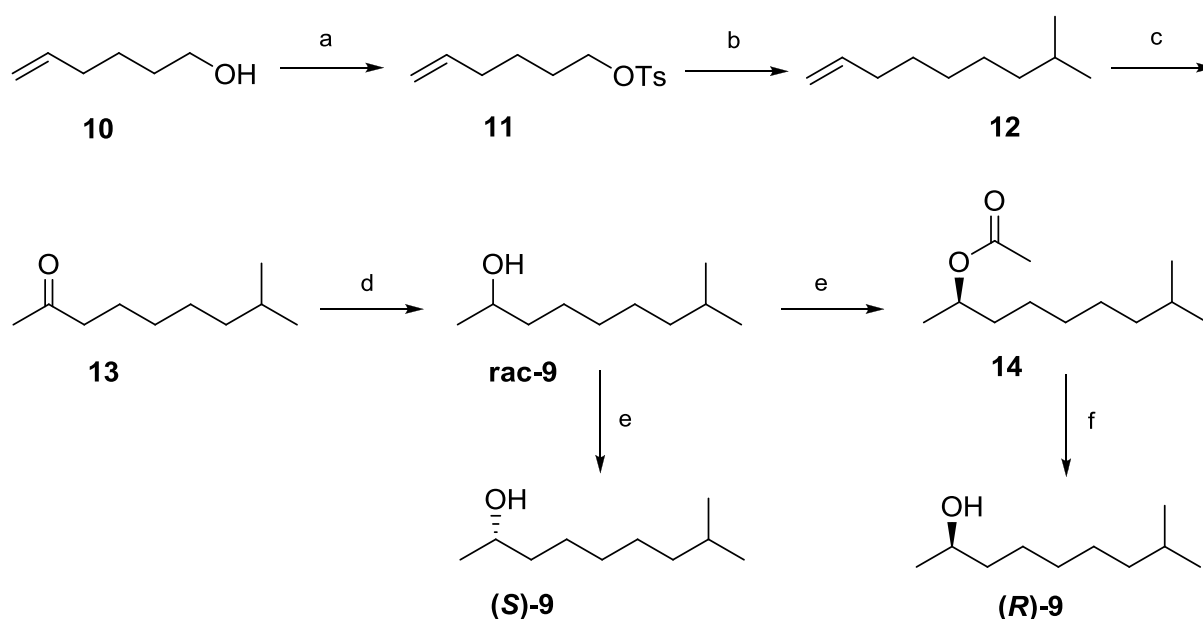


Abbildung 8: Synthese von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (**9**). a) TsCl, Pyridin, DCM, 1 h, 95 %; b) Isobutylmagnesiumbromid, Li₂CuCl₄, THF, 24 h, 74 %; c) PdCl₂, Cu(OAc)₂, O₂, DMSO, H₂O, 72 h, 88 %; d) LAH, Et₂O, Rückfluss, 1 h, 69 %; e) Amano Lipase PS, Vinylacetat, 14 h, 42 %; f) NaH, MeOH, 0 °C, 3 h, 87 %.

3.1.1.3 Phoracantholid J

Das Massenspektrum von Verbindung **B** entsprach dem des literaturbekannten Phoracantholid J (**15**). Bisher bekannte Syntheserouten zu enantiomerenreinem **15** waren entweder relativ lang oder benutzten die Ringschlussmetathese als Zyklisierungsmethode^[48,49,50], welche nach unserer Erfahrung schlechtere Ausbeuten und niedrigere Enantiomerenreinheit lieferte.

Die während meiner Masterarbeit durchgeführte Synthese des Phoracantholid J, welche im Schlüsselschritt den Laktonring mittels Ringschlussmetathese zyklisierte, lieferte nur eine Gesamtausbeute von 6 %^[51]. So wurde eine neue und kurze Synthese entworfen, welche die Corey-Nicolaou Makrolaktonisierung^[52,53] als Schlüsselschritt benutzt. Die beiden Enantiomere des Phoracantholid J (**15**) wurden, wie in Abbildung 9 für das (*S*)-Enantiomer gezeigt, synthetisiert. Der Alkohol **16** wurde durch die Reaktion von Homoallylmagnesiumbromid (**17**) mit (*S*)-Propylenoxid erhalten^[54]. Lemieux-Johnson Oxidation der Doppelbindung führte zum Aldehyd **18**, welcher in der folgenden Wittig-Reaktion mit (3-Carboxypropyl)triphenylphosphoniumylid, vorzugweise zur *Z*-konfigurierten Hydroxysäure (**19**), reagierte (*Z*:*E* = 95:5). Die Zyklisierung nach der Corey und Nicolaou Methode führte zum gewünschten Phoracantholid J (**15**)^[48]. Eine Hydrierung der Doppelbindung von **15** lieferte das Phoracantholid I (**20**)^[48].

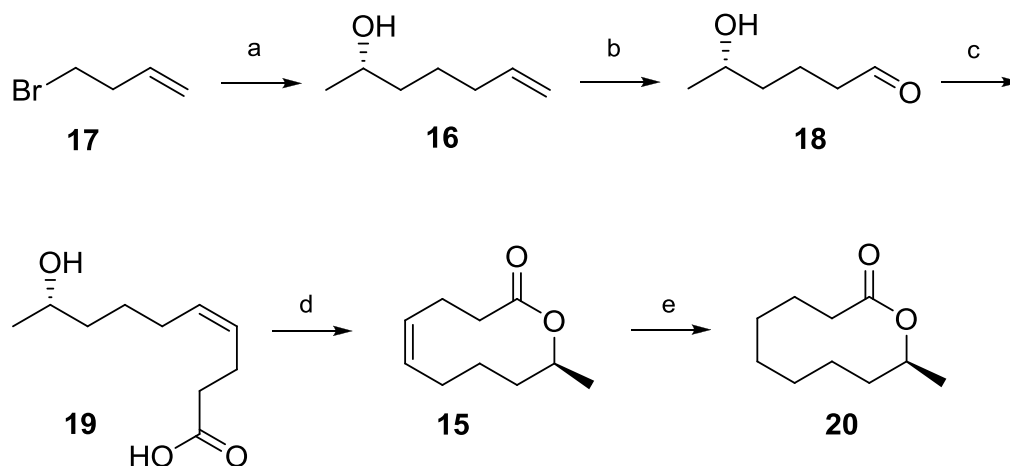


Abbildung 9: Synthese von Phoracantholid J (**15**) und I (**20**). a) i) Mg, Et₂O, ii) CuCN iii) (*S*)-Propylenoxid, 0 °C, 12 h, 91 %; b) K₂OsO₄, NaIO₄, Dioxan, H₂O, 0 °C, 2 h, 71 %; c) *n*BuLi, NaHMDS, [Ph₃P(CH₂)₃COOH]Br, THF, -78 °C bis RT, 2 h, 69 %, d) i) Dipyridyldisulfid, ii) AgClO₄, Toluol, Rückfluss, 14 h, 26 %; e) H₂, 10 % Pd/C, MeOH, 5 h, 75 %.

3.1.1.4 Chirale Gaschromatographie

Nachdem von den Verbindungen **A** und **B** jeweils beide Enantiomere hergestellt wurden, konnte die absolute Konfiguration der Naturstoffe durch chirale GC Experimente aufgeklärt werden. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 10 dargestellt. Dazu wurde für 8-Methylnonan-2-ol (**9**) zunächst eine Mischung aus den synthetisierten Enantiomeren hergestellt und eine Methode für die Trennung auf einer chiralen Hydrodex-6-TBDMS-Phase entwickelt. Nachdem eine gute Trennung der Enantiomere erreicht wurde (E), konnten zunächst die beiden Enantiomere einzeln untersucht werden. Für das in (D) dargestellte (*S*)-Enantiomer konnte ein Enantiomerenüberschuss von 62 % ermittelt werden. Das nicht abgebildete (*R*)-Enantiomer erreichte einen ee von 90 %. Anschließend wurde die Elutionsfolge ((*S*) vor (*R*)) durch Koinjektion des Racemats mit dem (*S*)-Enantiomer bestimmt (C). Die Koinjektion des Naturstoffes mit der Mischung der Enantiomere (A) bewies eindeutig, dass es sich bei der in *Mantidactylus multiplicatus* vorkommenden Verbindung **A** um (*R*)-8-Methylnonan-2-ol handelt. Der ee des Naturstoffes liegt bei mindestens 99 % (B).

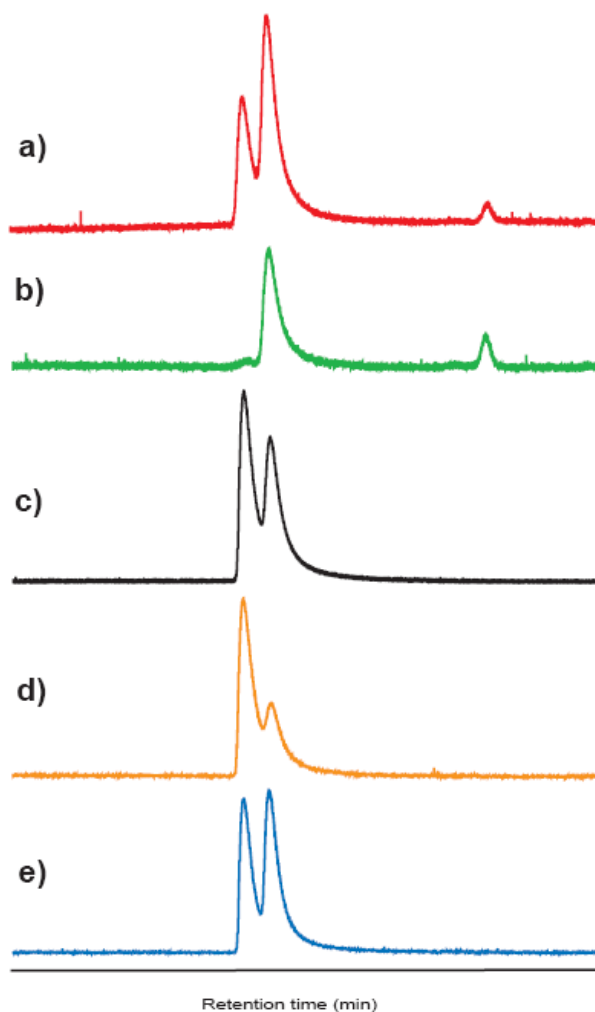


Abbildung 10: Bestimmung der absoluten Konfiguration von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (**9**) aus *Mantidactylus multiplicatus* durch chirale Gaschromatographie auf einer Hydrodex-6-TBDMS-Phase: a) Koinjektion des Racemats und des natürlichen 8-Methylnonan-2-ols, b) Natürliches 8-Methylnonan-2-ol, c) Koinjektion des Racemats und des synthetischen (*S*)-8-Methylnonan-2-ols, d) synthetisches (*S*)-8-Methylnonan-2-ol (62 % ee), e) Racemat des synthetischen 8-Methylnonan-2-ol.

Auch die absolute Konfiguration von Phoracantholid J (**15**) wurde entsprechend mittels chiraler Gaschromatographie bestimmt (Abb. 11). Es konnte gezeigt werden, dass es sich bei dem in *Mantidactylus multiplicatus* vorkommenden Naturstoff um enantiomerenreines (*S*)-Phoracantholid J handelt. Phoracantholid J wurde schon als Bestandteil des Verteidigungssekrets des australischen Käfers *Phoracantha synonyma* beschrieben. Jedoch kommt es in den Käfern in der (*R*)-Konfiguration vor^[55].

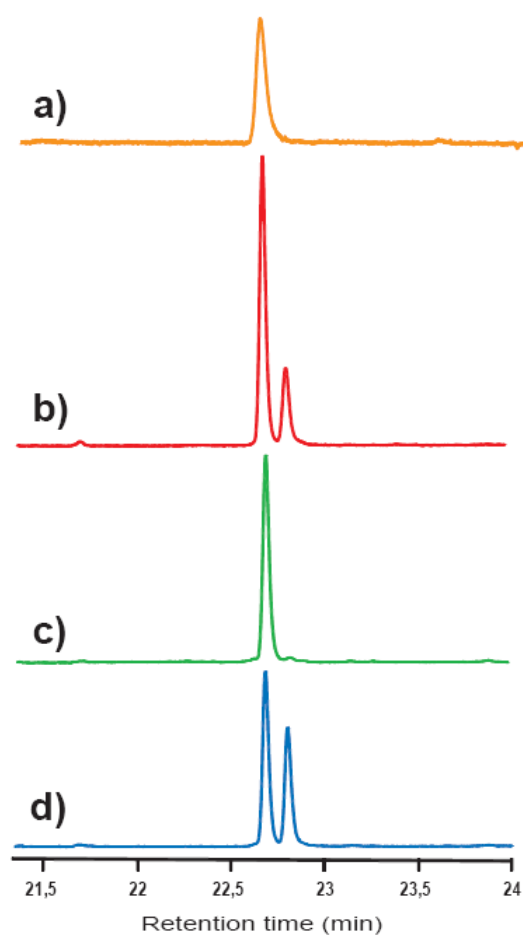


Abbildung 11: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Phoracantholid J (**15**) aus *Mantidactylus multiplicatus* durch chirale GC auf einer Hydrodex-6-TBDMS-Phase: a) synthetisches (*S*)-Phoracantholid J, b) Koinjektion des Racemats und des natürlichen Phoracantholid J, c) Natürliches Phoracantholid J, d) Racemat des synthetischen Phoracantholid J.

3.1.1.5 Biotest

Des Weiteren konnte von unserem Kooperationspartner PROF. M. VENCES auf Madagaskar ein Biotest mit 109 lebenden Individuen von *Mantidactylus multiplicatus* durchgeführt werden, um eine verhaltensmodifizierende Wirkung von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (**9**) und (*S*)-Phoracantholid J (**15**) zu untersuchen^[56]. Die Experimente wurden im Februar 2009 während der Brutsaison mit frisch gefangenen Tieren unter natürlichen Temperaturbedingungen durchgeführt. Die Frösche wurden dazu einzeln in einen Plastikbehälter gesetzt, in dem auf jeder Seite ein Wattestück lag, das entweder mit der zu testenden Substanz oder einer Kontrollsubstanz imprägniert war. Die Experimente wurden mit jedem Frosch acht Mal wiederholt, wobei jeweils eine Pause von mehreren Stunden zwischen den Experimenten lag. Die Aktivität der Frösche wurde als Funktion der Körperpositionswechsel gemessen, die auf 800 Fotoserien von jeweils sieben Bildern basierte, die im Abstand von 5 Minuten aufgenommen wurden. Bei der Exposition von mit Hexan imprägnierten Wattestücken zeigten die Frösche eine geringere Aktivität als bei Wasser. Jedoch zeigten die Männchen eine höhere Aktivität gegenüber der Hexankontrolle, wenn sie Verbindung (**R**)-**9** oder (**S**)-**15** ausgesetzt wurden (s. Abb. 12). Außerdem zeigten die Männchen eine signifikante Tendenz, ihre erste Bewegung in Richtung der Seite des Behälters zu machen, auf der Verbindung (**R**)-**9** präsentiert wurde. So konnte insgesamt gezeigt werden, dass die Verbindungen (**R**)-**9** und (**S**)-**15** fähig sind, Verhaltensänderungen in konspezifischen Individuen hervorzurufen. Sie entsprechen so der allgemeinen Definition eines Pheromons und scheinen daher auch eine Rolle in der intraspezifischen Kommunikation zu spielen. Die genaue Funktion muss in zukünftigen Biotests noch genauer untersucht werden.

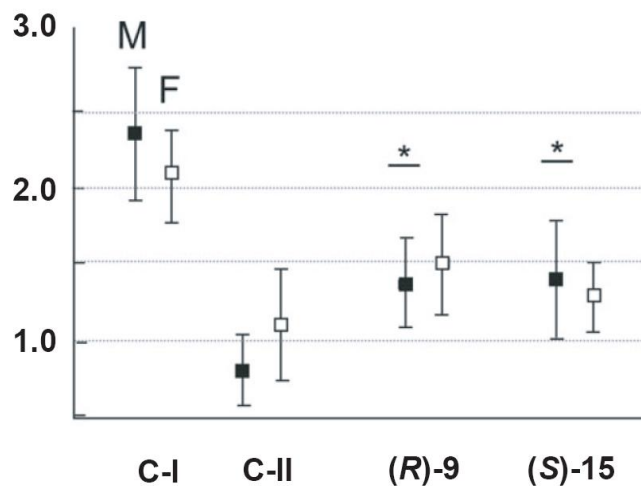


Abbildung 12: Aktivität (Anzahl der Körperpositionswechsel in 7 Intervallen von 5 Minuten) in Männchen und Weibchen von *M. multiplicatus* nach Exposition von Wasser (C-I, Kontrolle, Männchen 100, Weibchen 216 Beobachtungsserien), Hexan (C-II, Kontrolle, Männchen 73, Weibchen 42) und in Hexan gelöste Verbindungen **(R)-9** (Männchen 78, Weibchen 46) und **(S)-15** (Männchen 36; Weibchen 123), zeigt die gesteigerte Aktivität im Vergleich mit der Hexankontrolle (Sternchen markieren signifikante Abweichungen zu C-II; $P < 0.05$)^[56].

3.1.2 *Gephyromantis boulengeri*

3.1.2.1 Allgemeines

Gephyromantis boulengeri ist im gesamten östlichen Madagaskar verbreitet. Dabei sind sie unabhängig von fließendem Wasser und kommen auch in feuchten Gebieten mit Sekundärvegetation vor. Die Individuen erreichen eine Größe von 25-30 mm und sind meist dunkelbraun gefärbt (s. Abb. 13). Die Männchen besitzen eine schwärzliche Schallblase und bilden gut sichtbare Femoraldrüsen aus. Sie rufen auch tagsüber vom Waldboden oder von Positionen bis 1 m über dem Boden. Ihre Rufe sind eine laute und schnelle Abfolge von 7-20 Tönen, die im Regenwald des östlichen Madagaskars eines der typischen Geräusche sind^[24].



Abbildung 13: *Gephyromantis boulengeri*. Foto: M. Vences

Die Untersuchung des Femoraldrüsenextraktes von *Gephyromantis boulengeri* (s. Abb. 14) lieferte ein überraschendes Ergebnis. Der Extrakt enthielt fast ausschließlich einen unbekannten Naturstoff in hoher Konzentration. Diese Zusammensetzung der Probe ermöglichte die direkte Analyse dieser Verbindung mit 2D-NMR Experimenten. Außerdem wurde mittels hochauflösender Massenspektrometrie eine Molekülmasse von 224.1781 u ermittelt, was einer Elementzusammensetzung von $C_{14}H_{24}O_2$ (berechnet: 224.1776 u) entspricht.

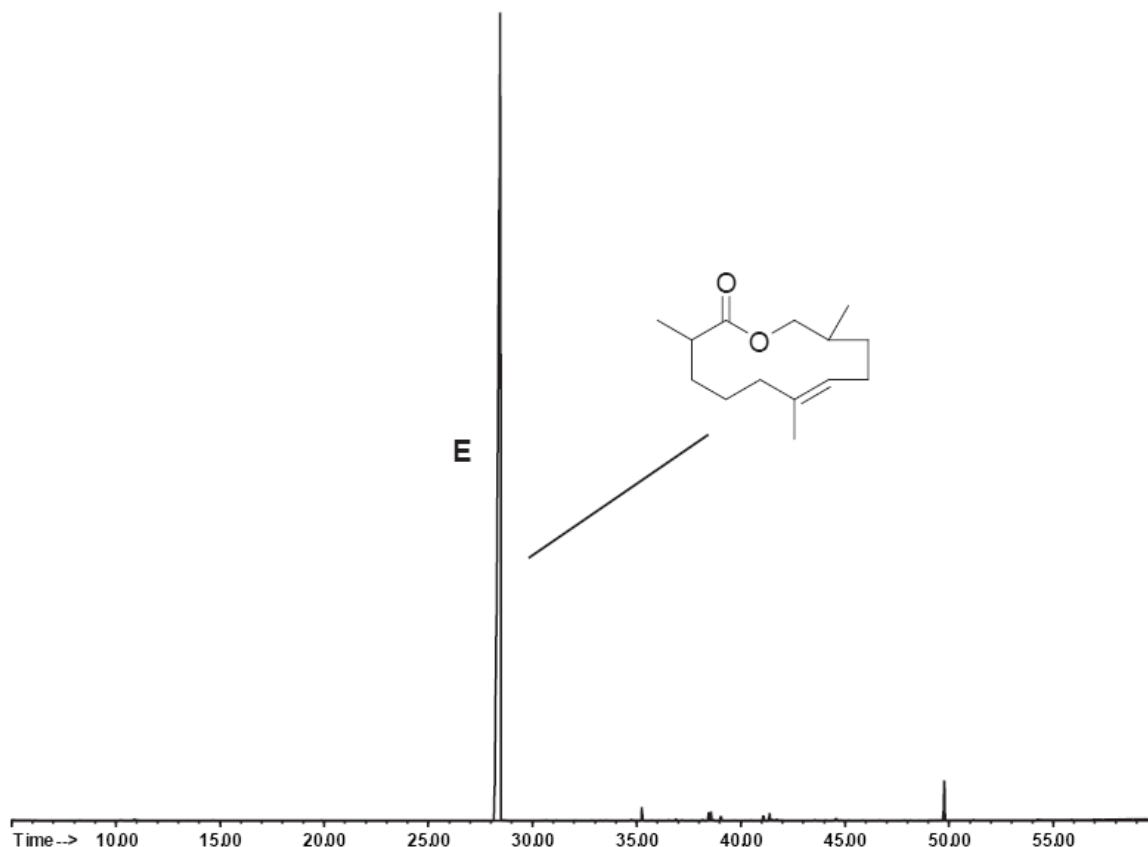


Abbildung 14: Gaschromatogramm des Extrakts von *Gephyromantis boulengeri*. Der unbekannte Naturstoff **E** tritt in hoher Konzentration auf.

Die schon 2008 im Rahmen der Masterarbeit durchgeführten 2D-NMR Untersuchungen führten zu einem konsistenten Strukturvorschlag^[56]. In Abbildung 15 sind die entsprechenden Kopplungen dargestellt.

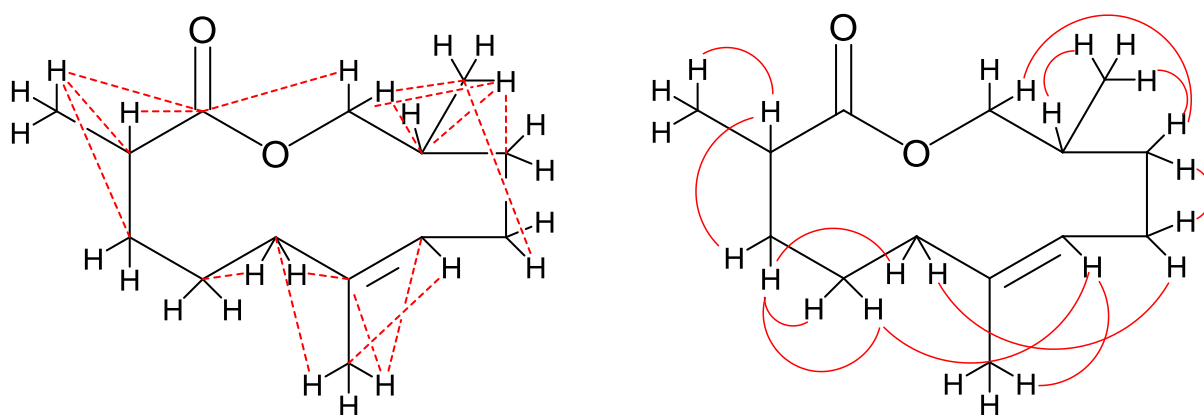


Abbildung 15: Aus den 2D-NMR Experimenten ermittelte Kopplungen im Gephyromantolid A: HMBC (links), HH-COSY (rechts)^[56].

3.1.2.2 Gephyromantolid A

Der entwickelte Strukturvorschlag konnte dann im Rahmen dieser Arbeit durch eine einfache und kurze Synthese überprüft werden (Abb. 16).

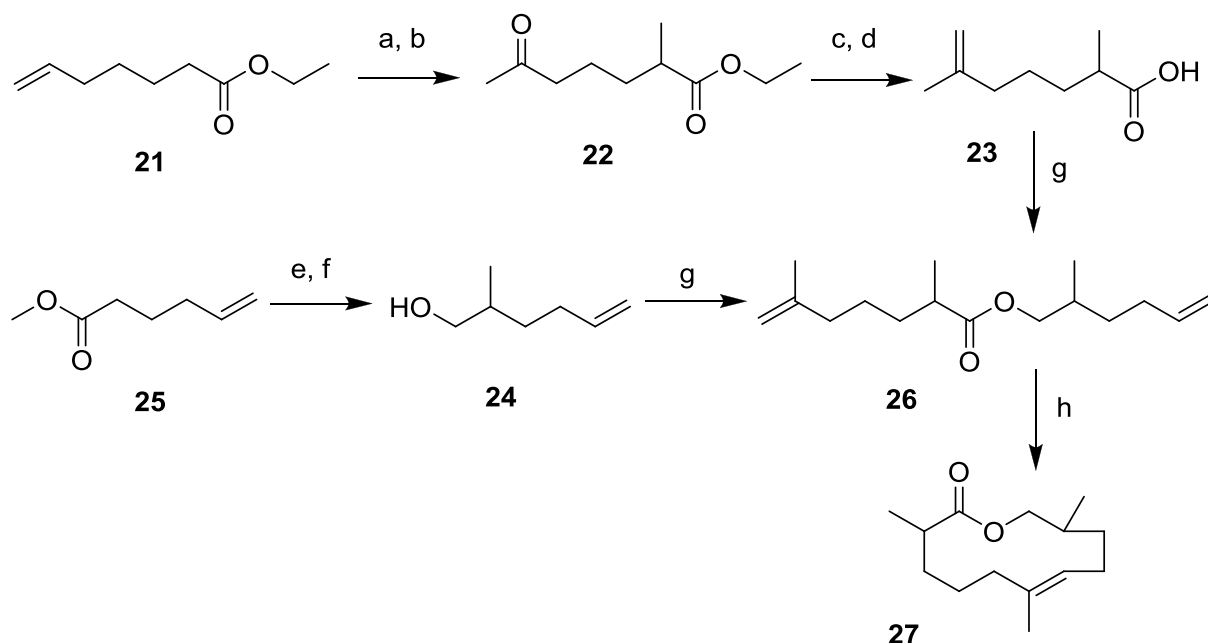


Abbildung 16: Synthese von (*E*)-3,7,11-Trimethyloxacyclododec-7-en-2-on (**27**): a) LDA, MeLi, THF, 12 h, 74 %; b) Cu(OAc)₂, PdCl₂, O₂, DMF, H₂O, 72 h, 51 %; c) MePPh₃Br, *n*BuLi, 2 h, 68 %; d) KOH, EtOH, H₂O, 4 h, 61 %; e) LDA, MeLi, THF, 12 h, 78 %; f) LAH, Et₂O, 2 h, 83 %; g) **67**+**89**, DMAP, EDC·HCl, DCM, 0 °C, 3 h, 53 %; h) Grubbs-II, DCM, 14 h, 54 %.

Dazu wurde zunächst 6-Heptensäureethylester (**21**) in α -Position mit LDA/MeI methyliert und anschließend durch eine Wacker-Oxidation der Doppelbindung in 2-Methyl-6-oxoheptansäureethylester (**22**) überführt. Die Ketofunktion von **22** wurde im nächsten Schritt in einer Wittig-Reaktion mit Methyltriphenylphosphoniumbromid wieder olefiniert. Nach der anschließenden Esterhydrolyse wurde die Säure **23** als erster Baustein erhalten. Der Alkohol **24** wurde durch Methylierung des 5-Hexensäuremethylesters (**25**) in α -Position und darauf folgender Reduktion mit LAH hergestellt. Durch Veresterung der Säure **23** mit dem Alkohol **24** konnte der ungesättigte Ester **26** synthetisiert werden. Im letzten Schritt wurde **26** durch eine Ringschlussmetathese mit Grubbs-II-Katalysator zu (*E*)-3,7,11-Trimethyloxacyclododec-7-en-2-on (**27**) zyklisiert.

Nun konnten die Massenspektren der synthetischen und der natürlichen Verbindung verglichen werden. Es konnte trotz der leichten Abweichungen bei den Ionenintensitäten, die auf unterschiedliche Geräteeinstellungen zurückzuführen sein dürften, eine gute Übereinstimmung festgestellt werden (s. Abb. 17). Auch die NMR-Spektren der natürlichen und synthetischen Substanz erwiesen sich als identisch (s. Abb. 22-24) Für den neu entdeckten Naturstoff schlage ich den Namen Gephyromantolid A vor.

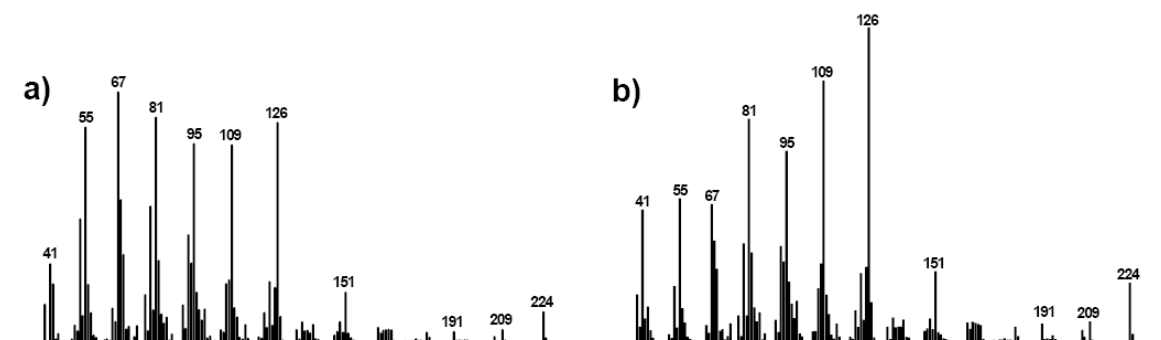


Abbildung 17: Massenspektren von Gephyromantolid A: a) natürliches Gephyromantolid A; b) synthetisches Gephyromantolid A

Um die absolute Konfiguration des Gephyromantolid A zu bestimmen wurden alle vier Enantiomere hergestellt. Hierfür wurde eine stereoselektive Synthese entwickelt, bei der die beiden stereogenen Methylgruppen selektiv durch die Verwendung des Evans-Auxiliars^[57] eingeführt wurden (s. Abb. 18). Im weiteren Verlauf der Synthese wurden die beiden chiralen Bausteine **28** und **29** gekuppelt und schließlich in einer optimierten Ringschlussmetathese zur gewünschten Zielverbindung zyklisiert.

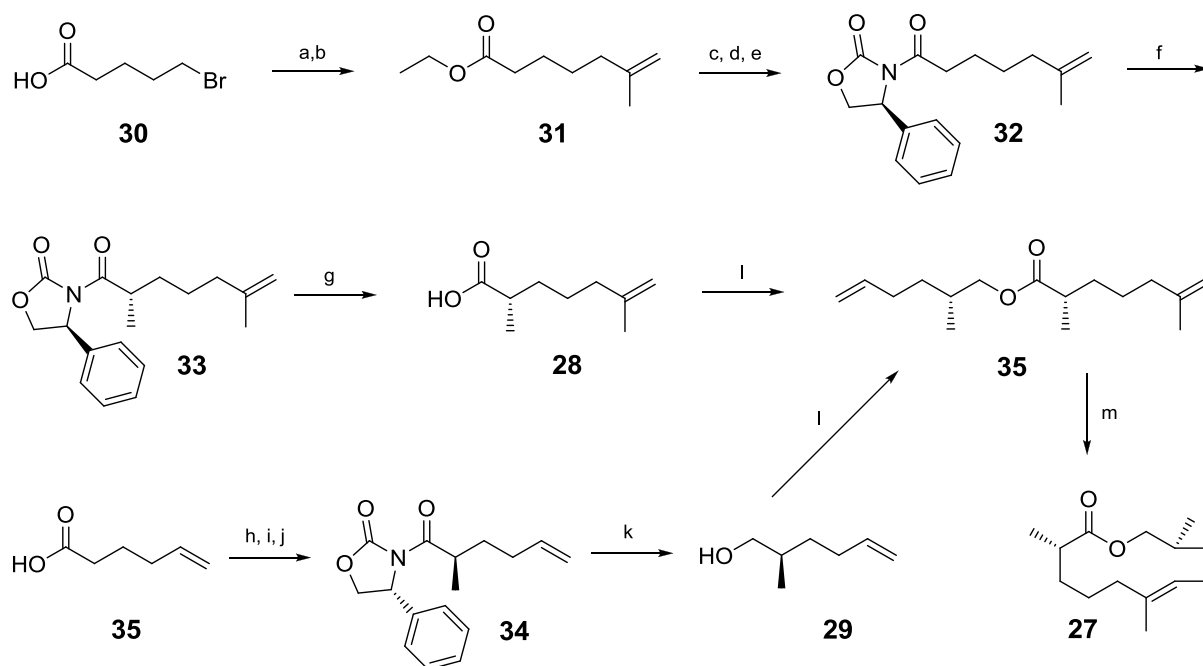


Abbildung 18: Synthese von (2*S*,6*E*,10*R*)-Gephyromantolid A (**27**) aus *Gephyromantis boulengeri*. a) H_2SO_4 , EtOH, Rückfluss, 6 h, 84 %; b) Li_2CuCl_4 , Isopropenylmagnesiumbromid, THF, 0 °C, 12 h, 91 %; c) KOH, EtOH, H_2O , reflux, 4 h, 84 %; d) $\text{C}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$, EtO_2 , 0 °C, 12 h, 84 %; e) (*S*)-4-Phenylloxazolidin-2-on, *n*BuLi, THF, -78 °C bis RT, 12 h, 91%; f) NaHMDS, MeI, THF, -78 °C bis RT, 12 h, 95 %; g) KOH, MeOH, H_2O , Rückfluss, 4 h, 82 %; h) $\text{C}_2\text{Cl}_2\text{O}$, Et_2O , 0 °C, 12 h, 91 %; i) (*R*)-4-Phenylloxazolidin-2-on, *n*BuLi, THF, -78 °C bis RT, 12 h, 88 %; j) NaHMDS, MeI, THF, -78 °C bis RT, 12 h, 93 %; k) LAH, Et_2O , RT, 86 %; l) **16** + **12**, DMAP, EDC·HCl, DCM, 0 °C, 2 h, 92 %; m) Stewart-Grubbs-II, C_6F_6 , Toluol, 80 °C, 3 h, 15 %.

Als erstes wurde 5-Brompentansäure (**30**) in den entsprechenden Ethylester umgewandelt und unter Li_2CuCl_4 Katalyse mit 2-Propenylmagnesiumbromid gekuppelt. Aus dem resultierenden Ester **31** wurde dann das Evans-Amid **32** hergestellt, welches durch Alkylierung mit NaHMDS/MeI in exzellenter Ausbeute und 99 % Diastereoselektivität in **33** überführt wurde. Die Abspaltung des Auxiliars führte zur chiralen Säure **28**. Der als zweiter Baustein benötigte Alkohol **29** wurde mit Hilfe der Evans Methode synthetisiert. Dazu wurde wiederum das Evans-Amid **34** aus 5-Hexensäure (**35**) hergestellt und anschließend stereoselektiv methyliert. Die folgende Reduktion mit LAH führte zum Alkohol **29**, welcher mit der Säure **28** zum ungesättigten Ester **35** gekuppelt wurde. Die anschließende Ringschlussmetathese stellte sich als anspruchsvoll heraus, so dass verschiedene Reaktionsbedingungen und Katalysatoren

getestet wurden. Die besten Ergebnisse wurden mit dem Stewart-Grubbs-II-Katalysator und C₆F₆ in siedendem Toluol erzielt^[58]. Trotzdem wurde als Produkt eine schwierig zu trennende Mischung des (*E*)- und (*Z*)-Isomers von **27**, begleitet von weiteren Reaktionsprodukten, erhalten.

3.1.2.3 Ringschlussmetathese

Da der erste Ansatz der Ringschlussmetathese nach der Methode von XUAN et al.^[59] nur einen sehr schlechten Umsatz und eine schlechte Ausbeute lieferte, wurden die Bedingungen optimiert. Die für die jeweiligen Reaktionen verwendeten Bedingungen und die erhaltenen Produktausbeuten sind in Tabelle 1 dargestellt. In der Spalte [Kat.] sind die jeweils verwendeten Katalysatoren angegeben, deren Strukturen in Abbildung 19 dargestellt sind. In der Spalte [LSM] steht das verwendete Lösungsmittel und ein Kreuz in der Spalte [C₆F₆] zeigt den Zusatz von Hexafluorobenzol in 0.1 M Konzentration an. Die Spalte [Konz.] führt die jeweilige Eduktkonzentration und die Spalte [t] die Reaktionszeit auf. In den folgenden Spalten sind die Produktverhältnisse aufgelistet. Die Produktanteile wurden durch GC/MS-Analyse des Rohproduktes erhalten. Die Spalte [(*E*)] zeigt den Anteil von gebildetem Produkt mit (*E*)-Konfiguration, Spalte [(*Z*)] entsprechend des (*Z*)-Produktes an. Das gewünschte, dem Naturstoff entsprechende, Produkt ist das (*E*)-konfigurierte. Die in der Spalte [Nebenprodukte] aufgeführten Verbindungen sind Produkte mit kleinerer Ringgröße, die durch Isomerisierung der Doppelbindung vor der Ringschlussreaktion entstanden sind. Hier konnten hauptsächlich die Isomere des um ein Kohlenstoffatom verkürzten Makrolides mit der Masse $m/z = 210$ und zu geringerem Anteil der um eine Kohlenstoffeinheit vergrößerte Ring mit der Molekülmasse $m/z = 238$ nachgewiesen werden. Bei den in der Spalte [Dimer] aufgeführten Produktanteilen handelt es sich um dimerisiertes Edukt, welches aus der intermolekularen Reaktion zweier Eduktmoleküle entsteht. In der Spalte [Edukt] ist der Anteil an unreaktiertem Edukt aufgelistet.

Tabelle 1: Optimierungsreaktionen der Ringschlussmetathese

Nr.	Kat.	LSM	C ₆ F ₆	Konz. (mM)	t	(E)	(Z)	Nebenprodukte	Dimer	Edukt
1	2	DCM		10	6d	3	7	42	31	17
2	2	Toluol		4	1d	14	47	30	9	
3	1	Toluol	x	0.8	1d					100
4	2	Toluol	x	0.8	1d	29	45	26		
5	3	Toluol	x	0.8	2h	35	57	7		
6	4	Toluol	x	0.8	2h	30	70			

Aus Tabelle 1 ist zu entnehmen, dass Reaktion 1 sehr langsam ablief und sich außerdem viel dimerisiertes Produkt und andere Nebenprodukte bildeten. Die Reaktion war auch nach sechs Tagen noch nicht vollständig abgeschlossen. Der hohe Anteil an Dimer ist auf die relativ hohe Eduktkonzentration zurückzuführen. Je größer die Verdünnung ist, desto unwahrscheinlicher ist auch die Dimerisierung^[60]. Deshalb wurden die weiteren Reaktionen in größerer Verdünnung durchgeführt. Dass selbst nach langer Reaktionszeit immer noch Edukt in der Reaktionsmischung vorhanden war, lässt auf eine Katalysatordeaktivierung schließen. Diese kann bei den relativ stabilen Grubbs-Katalysatoren durch Chelatisierung des Rutheniumzentrums durch im Edukt vorhandene Carbonylgruppen entstehen^[60]. Der hohe Anteil an Nebenprodukten kann auch auf die lange Reaktionszeit zurückgeführt werden. Da durch die Ringspannung, insbesondere bei Ringen mittlerer Größe, die Ringöffnungsreaktion günstig ist, finden Ringschluss- und Ringöffnungsreaktion statt^[61]. Weil laufend Hin- und Rückreaktionen stattfinden, erhöht sich mit längerer Reaktionszeit auch die Wahrscheinlichkeit, dass die Doppelbindungen der Moleküle isomerisieren und so Ringe mit größerer und kleinerer Kohlenstoffanzahl entstehen.

Die beiden Hauptänderungen bei Reaktion 2 waren der Wechsel zu Toluol als Lösungsmittel und eine Verringerung der Eduktkonzentration. Toluol hat im Vergleich zu Dichlormethan einen viel höheren Siedepunkt und ermöglicht so höhere Reaktionstemperaturen, die in einer kürzeren Reaktionszeit resultieren. Außerdem konnte von GERLACH et al.^[62] gezeigt werden, dass durch die Verwendung von Toluol anstatt von Dichlormethan mehr (*E*)-konfiguriertes Produkt entsteht. Die geringere Eduktkonzentration von 4 mmol/L konnte die Dimerbildung deutlich verringern. Da aber immer noch 9 % dimerisiertes Produkt entstand, wurde sie in den folgenden Reaktionen weiter erniedrigt.

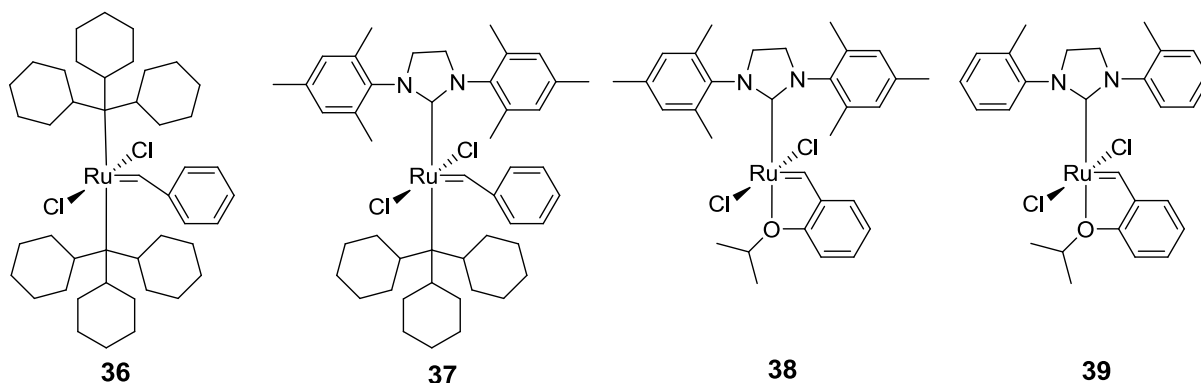


Abbildung 19: Strukturen der getesteten Grubbs-Katalysatoren: **36)** Grubbs-I **37)** Grubbs-II **38)** Hoveyda-Grubbs-II **39)** Stewart-Grubbs-II

Nachdem das Lösungsmittel und die Eduktkonzentration optimiert werden konnten, wurden in den folgenden Reaktionen (3-6) verschiedene Katalysatoren (s. Abb. 19) getestet. Katalysator **36** ist der Grubbs-Katalysator 1. Generation, welcher die erste Entwicklungsstufe der Rutheniummetathesekatalysatoren darstellt. Er wurde zum Grubbs-Katalysator 2. Generation **37** weiterentwickelt, der eine höhere Aktivität aufweist. Bei der Herstellung von **37** aus **36** wird einer der Tricyclohexylphosphinliganden durch 1,3-Dimesitylen-4,5-dihydroimidazol ersetzt^[63]. HOVEYDA entwickelte aus dem Grubbs-II-Katalysator (**37**) den Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator (**38**). Hier wurde auch der verbliebene Tricyclohexylphosphinligand entfernt und durch einen aromatischen Ether ersetzt^[64]. Eine weitere Modifikation stellt der Stewart-Grubbs-II-Katalysator^[65] (**39**) dar. Er unterscheidet sich von **38** nur durch das Fehlen von jeweils zwei Methylgruppen an den beiden Phenylgruppen des Imidazolliganden.

Neben der Verwendung dieser Katalysatoren wurde bei den Reaktionen (3-6) auch Hexafluorbenzol zugesetzt. Es konnte gezeigt werden, dass dieses Reagenz den Katalysator durch Koordination aktiviert und so die Reaktionszeit verkürzt^[58,66]. Ein Zusatz von Hexafluorbenzol (0.1 mol/L) konnte die Reaktionszeiten auf bis zu zwei Stunden senken.

Reaktion 3 zeigte nach einem Tag Reaktionszeit keinen Umsatz. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass der Grubbs-I-Katalysator (**36**) keine substituierten Doppelbindungen zyklisieren kann^[60]. Die unter Verwendung von **37** durchgeführte

Reaktion 4 war unter diesen Bedingungen nach der Reaktionszeit von einem Tag abgeschlossen. Es bildete sich zwar kein Dimer, aber 26 % Nebenprodukte durch Isomerisierung. Auch bei Reaktion 5 mit dem Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator (**38**) entstanden trotz der geringeren Reaktionszeit von zwei Stunden noch 7 % unerwünschte Nebenprodukte.

Das beste Ergebnis wurde schließlich mit dem Stewart-Grubbs-II-Katalysator (**39**) erzielt. Hier sind nach nur zwei Stunden Reaktionszeit keine Nebenprodukte entstanden. Das Makrolid wurde mit einem *E/Z*-Verhältnis von 30:70 gebildet. Dies zeigt, dass der Stewart-Grubbs-II-Katalysator (**39**) für das verwendete Substrat die beste Aktivität hat. Die Reaktivität des Grubbs-II-Katalysators ist im Vergleich zu **38** und **39** geringer. Dies liegt an dem bei **38** und **39** vorhandenen Etherliganden, der einfacher dissoziiert als der Tricyclohexylphosphinligand von **37**. Deswegen reagiert **37** langsamer und es können mehr unerwünschte Nebenprodukte durch Isomerisierung entstehen. Das **39** auch besser reagiert als **38** liegt an der verminderten sterischen Hinderung durch den Imidazolliganden. Durch das Fehlen von insgesamt vier Methylgruppen am Imidazolliganden von **39** ist eine Koordination an substituierte Doppelbindungen günstiger und die Reaktion kann einfacher und schneller ablaufen.

Unter den optimierten Bedingungen konnte **27** als Mischung des (*E*)- und (*Z*)-Isomeres hergestellt werden. Das gewünschte (*E*)-Isomer konnte anschließend durch semi-präparative HPLC Trennung isoliert werden. Die anderen drei Enantiomere (s. Abb. 20) wurden nach der gleichen Syntheseroute aus den entsprechend anders methylierten Bausteinen **28** und **29** hergestellt.

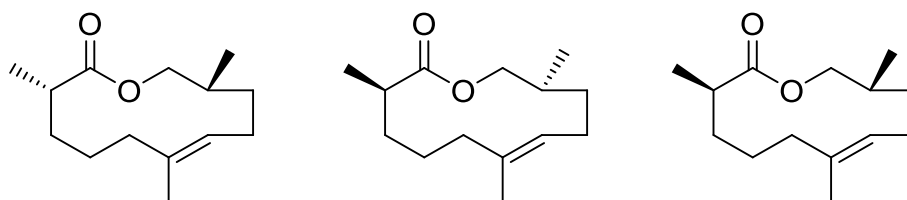


Abbildung 20: Strukturen der anderen Enantiomere von Gephyromantolid A: (*2S,6E,10S*)-Enantiomer (links), (*2R,6E,10R*)-Enantiomer (mitte), (*2R,6E,10S*)-Enantiomer (rechts)

3.1.2.4 Chirale Gaschromatographie

Nach der Herstellung aller Enantiomere konnte die absolute Konfiguration des Gephyromantolid A durch chirale Gaschromatographie bestimmt werden. Die in Abbildung 21 gezeigten Experimente wurden vor der präparativen Reinigung mittels HPLC durchgeführt. Aus diesem Grund sind auch die (Z)-Isomere vorhanden. Die Peakidentität wurde durch GC/MS Analyse bestätigt. Da die (2*RS*,6*E*,10*RS*)-Enantiomere eine signifikant höhere Retentionszeit als der Naturstoff aufwiesen, wurden diese als mögliche Strukturen des natürlichen Makrolides nach der Koinjektion ausgeschlossen.

Eine Analyse der Mischung des (2*S*,6*E*,10*R*)- und des (2*R*,6*E*,10*S*)-Enantiomers zeigte eine für die Bestimmung ausreichende Trennung der Isomere. Diese Mischung wurde dann zusammen mit dem Naturstoff koinjiziert. Dabei zeigte sich, dass sich die Peakfläche des (2*S*,6*E*,10*R*)-Enantiomers vergrößerte. Auch die Koinjektion des synthetischen Materials mit dem Naturstoff zeigte nur einen Peak und bestätigte so, dass der Naturstoff Gephyromantolid A aus *Gephyromantis boulengeri* in der (2*S*,6*E*,10*R*)-Konfiguration enantiomerenrein vorliegt.

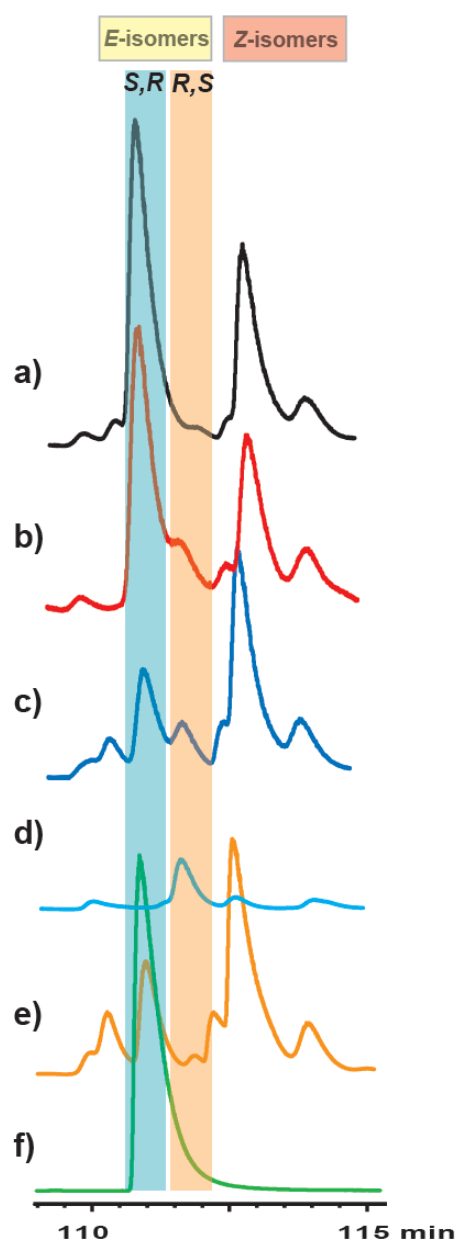


Abbildung 21: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Gephyromantolid A (**27**) aus *Gephyromantis boulengeri* durch chirale GC auf einer Lipodex-G-Phase: a) Koinjektion des synthetischen (2*S*,6*E*,10*R*)-Enantiomers und des natürlichen Gephyromantolid A, b) Koinjektion der Mischung der synthetischen (2*S*,6*E*,10*R*)- und (2*R*,6*E*,10*S*)-Enantiomere und des natürlichen Gephyromantolid A, c) Mischung der synthetischen (2*S*,6*E*,10*R*)- und (2*R*,6*E*,10*S*)-Enantiomere, d) (2*R*,6*E*,10*S*)-Enantiomer, e) (2*S*,6*E*,10*R*)-Enantiomer f) natürliches Gephyromantolid A.

3.1.2.5 NMR-Daten

Auch die NMR-Spektren des Naturstoffes und des synthetischen Gephyromantolid A waren identisch. Die ^1H -NMR-Spektren sind in Abbildung 22 und 23 dargestellt, die ^{13}C -NMR-Spektren in Abbildung 24. Die Signale der Verunreinigungen sind im ^1H -NMR durch einen Querstrich markiert.

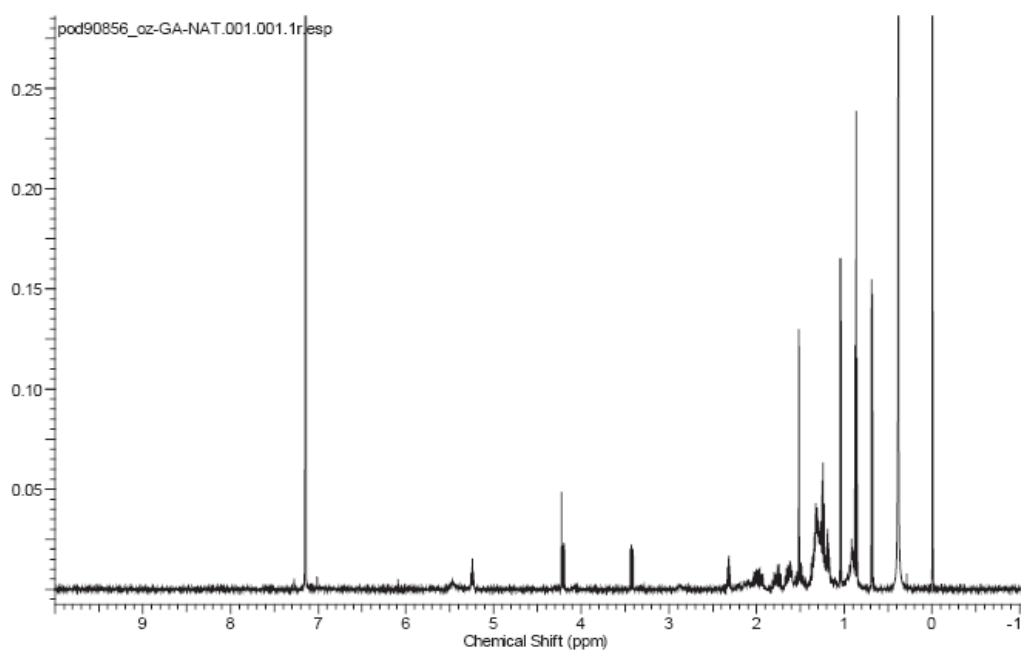


Abbildung 22: ^1H -NMR-Spektrum von natürlichem Gephyromantolid A in C_6D_6 .

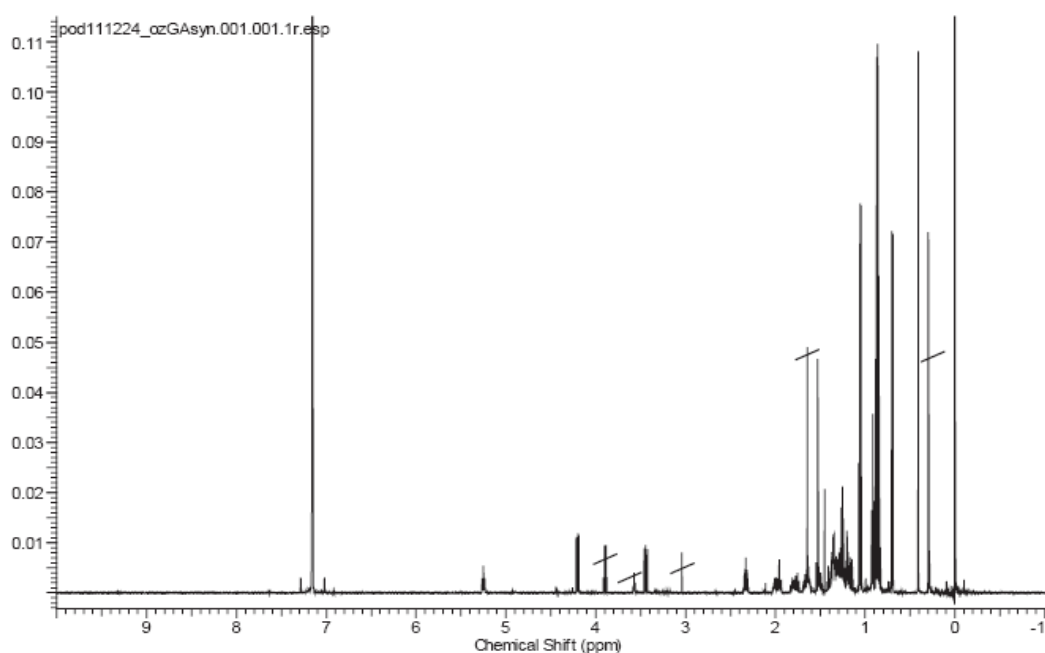


Abbildung 23: ^1H -NMR-Spektrum von synthetischem Gephyromantolid A in C_6D_6 .

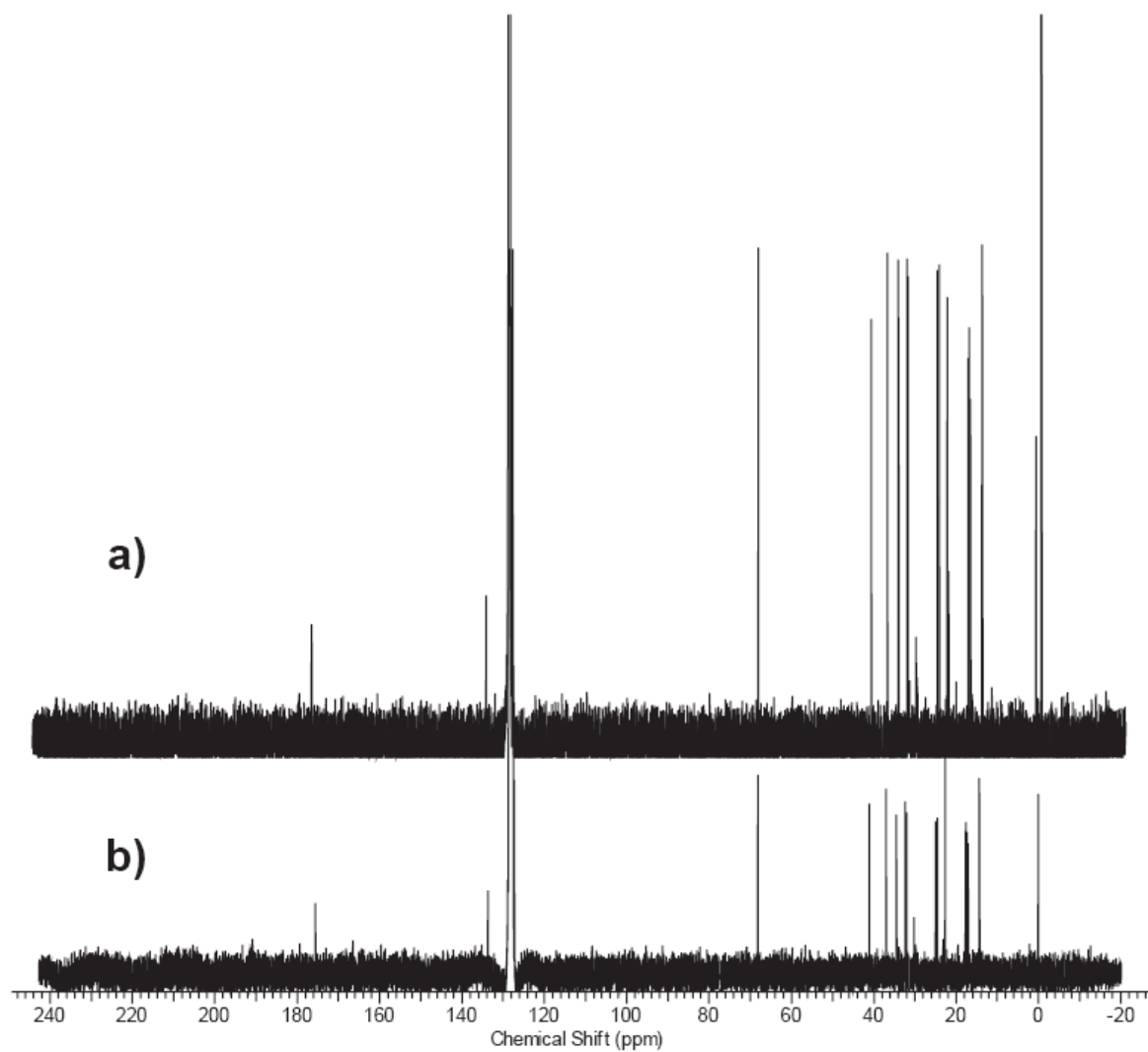


Abbildung 24: ^{13}C -NMR-Spektren von Gephyromantolid A: a) synthetisches, b) natürliches.

3.1.3 *Mantidactylus femoralis*

3.1.3.1 Allgemeines

Ein weiterer Vertreter der Mantelliden ist *Mantidactylus femoralis*. Er kommt hauptsächlich im Regenwald im Nordosten Madagaskars vor und ist dort vor allem in der Nähe von Wasserläufen in Ufernähe anzutreffen. Die Männchen erreichen eine Größe von 31-37 mm, die Weibchen 45-55 mm. Diese Frösche weisen einen charakteristischen gelben Fleck an der Seite auf, manchmal auch einen gelben Streifen entlang der gesamten Körperseite (s. Abb. 25)^[24]. Generell ist diese Art bislang taxonomisch sehr schlecht untersucht, und es gibt verschiedene genetische Varianten, die möglicherweise eigenständige Arten darstellen.



Abbildung 25: *Mantidactylus femoralis*. Foto: M. Vences

Das Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes eines am Fotsialanana Fluss gefangenen Frosches dieser Art ist in Abbildung 26 dargestellt. In diesem traten die beiden flüchtigen Verbindungen **F** und **G** als Hauptbestandteile auf.

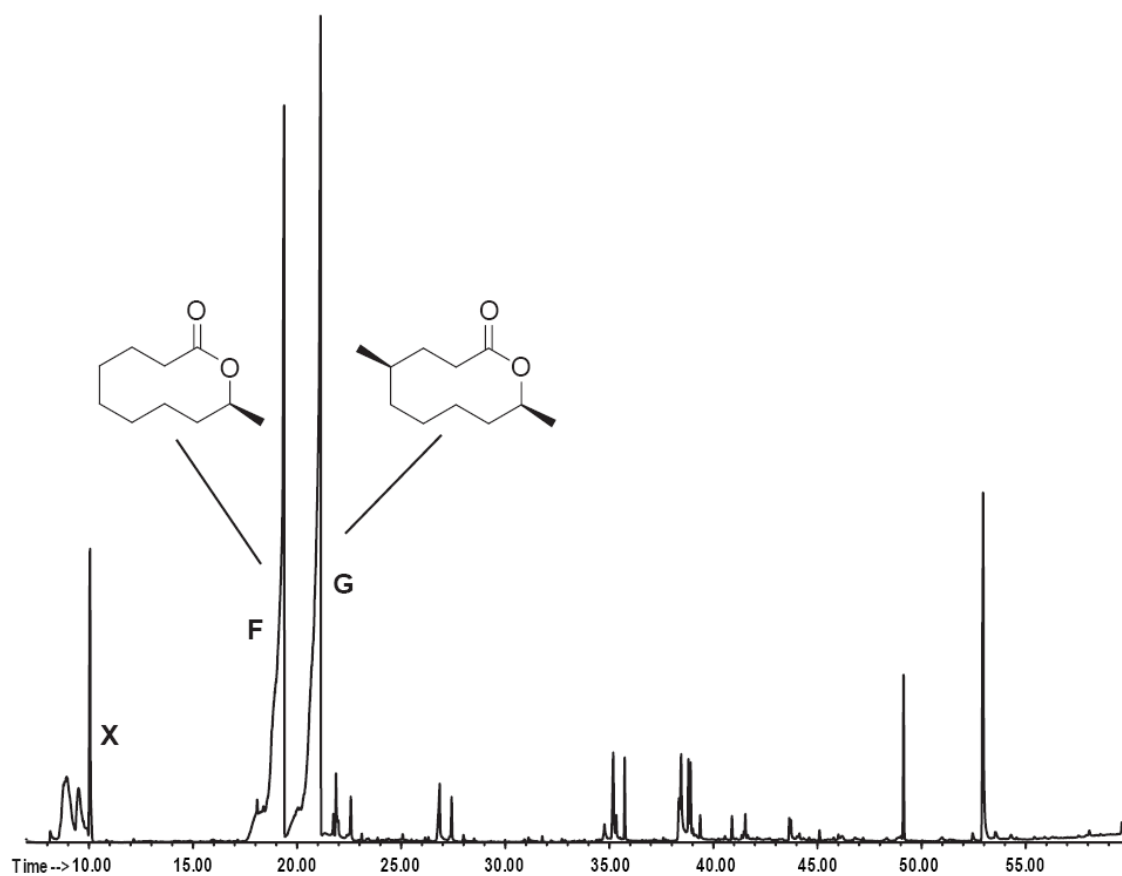


Abbildung 26: Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Mantidactylus femoralis* vom Fotsialanana Fluss. Die beiden Hauptkomponenten **F** und **G** treten in einer hohen Konzentration auf und werden von einer Mischung von weniger flüchtigen Fettsäureestern und Glyceriden begleitet. **X**: Artefakt.

3.1.3.2 Phoracantholid I

Die Verbindung **F** wurde schon während meiner Masterarbeit durch Analyse des Massenspektrums als Phoracantholid I (**20**) identifiziert^[51]. Dabei handelt es sich um das hydrierte Analogon von **15**, welches auch in den *Phoracantha* Käfern in der (*R*)-Konfiguration vorkommt^[48,55]. Durch Hydrierung des im Vorfeld synthetisierten Phoracantholid J konnten beide Enantiomere hergestellt werden (s. Abb. 9). Die anschließende Bestimmung der absoluten Konfiguration ist in Abbildung 27 dargestellt. Hier konnte gezeigt werden, dass es sich bei dem in *Mantidactylus femoralis* vorkommenden Naturstoff um enantiomerenreines (*S*)-Phoracantholid I handelt.

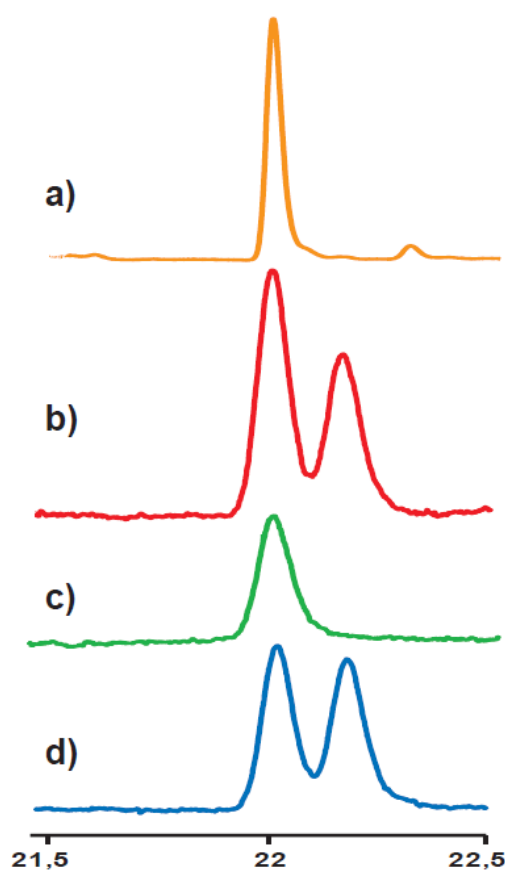


Abbildung 27: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Phoracantholid I (**20**) aus *Mantidactylus femoralis* durch chirale Gaschromatographie auf einer Hydrodex-6-TBDMS-Phase: a) synthetisches (*S*)-Phoracantholid I, b) Koinjektion des Racemats und des natürlichen Phoracantholid I, c) natürliches Phoracantholid I, d) Racemat des synthetischen Phoracantholid I.

3.1.3.3 Mantidactolid A

Die andere Hauptkomponente des Drüsenextraktes war ein bisher unbekannter Naturstoff mit der Molekülmasse 184. Durch hochauflösende Massenspektrometrie konnte eine Elementzusammensetzung von $C_{11}H_{20}O_2$ ermittelt werden (Masse = 184.1483 u, berechnet: 184.1463 u). Durch Analyse der Fragmentierungen und des Retentionsindex wurde eine Reihe von Strukturvorschlägen erarbeitet. Dabei wurde aufgrund des Retentionsindex (RI = 1336) davon ausgegangen, dass es sich bei der Zielstruktur um ein 10-Ringlaktone mit zwei Methylsubstituenten handelt. Der Retentionsindex von Phoracantholid I beträgt 1268, so dass eine einfache Kettenverlängerung auszuschließen war. Eine wahrscheinliche Substitutionsstelle war dabei die 10-Position, die auch im Phoracantholid I und J substituiert ist. Für die andere Methylgruppe wurde eine Substitution mit geradzahligem Abstand zur Carbonylgruppe vorgeschlagen, da die Makrolide wahrscheinlich dem Fettsäurestoffwechsel entstammen. Dabei wird die Kette aus Malonateinheiten zusammengesetzt, die in einer terminalen Carbonylgruppe endet^[67]. Methylverzweigungen entstehen durch den Einbau von Methylmalonat anstelle von Malonat. Dadurch sind Verzweigungen nur an geradzahligem C-Atomen der Kette zwanglos erklärbar. In den in Frage kommenden Zielstrukturen (s. Abb. 28) sind diese Einheiten fett hervorgehoben. Diese Strukturen wurden im Folgenden nach ihrer Herstellung in kurzen Synthesen durch den Vergleich ihrer Massenspektren mit dem Naturstoff überprüft.

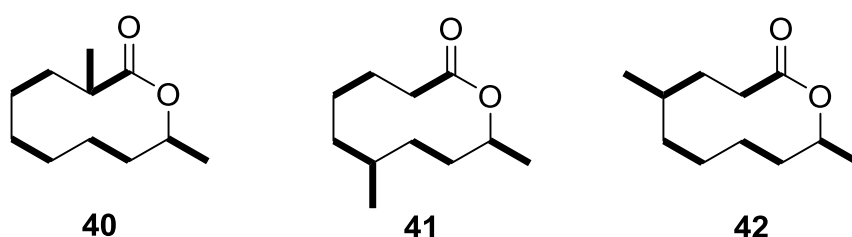


Abbildung 28: Makrolidzielstrukturen: **40)** 3,10-Dimethyloxecan-2-on; **41)** 7,10-Dimethyloxecan-2-on; **42)** 5,10-Dimethyloxecan-2-on.

Zunächst wurde 3,10-Dimethyloxecan-2-on (**40**) in einer kurzen Sequenz aus Phoracantholid J (**15**) hergestellt (s. Abb. 29). Zunächst wurde **15** mit NaHMDS/MeI in α -Position methyliert. Anschließend konnte das entstandene Lakton **43** mit Palladium auf Kohle im Wasserstoffstrom hydriert werden. Die Massenspektren der beiden diastereomeren Produkte entsprachen nicht dem des Naturstoffes (s. Abb. 32).

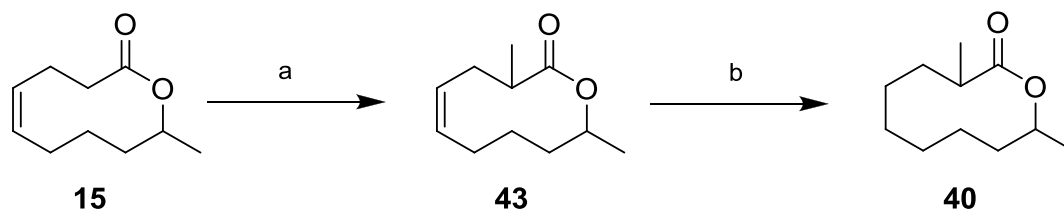


Abbildung 29: Synthese von 3,10-Dimethyloxecan-2-on: a) NaHMDS, MeI, DCM, 2 h, 72 %; b) H₂, 10 % Pd/C, MeOH, 5 h, 62 %.

Als nächstes wurde 7,10-Dimethyloxecan-2-on (**41**) ausgehend vom 6-Methyltetrahydro-2H-pyran-2-on (**44**) über sechs Stufen hergestellt (s. Abb. 30). Die Einführung einer Methylgruppe in der α -Position von **44** mit LDA/MeI lieferte 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-on (**45**). Dieses wurde dann durch partielle Reduktion mit LAH in das entsprechende 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-ol (**46**) umgewandelt. Eine Wittig-Reaktion mit Methyltriphenylphosphoniumbromidylid nach Deprotonierung von **46** mit NaHMDS führte zum ungesättigten Alkohol **47**. Dieser konnte anschließend mit 4-Pentensäure zum Pent-4-ensäure-5-methylhept-6-en-2-ylester (**48**) gekuppelt werden. Durch eine Ringschlussmetathese mit dem Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator konnte der Ester **48** dann in das ungesättigte Makrolid **49** überführt werden. Da der Ester **48** keine substituierten Doppelbindungen enthält, war auch der Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator bei der Reaktion in großer Verdünnung und mit Zusatz des Hilfsreagenzes C₆F₆ zur Zyklisierung gut geeignet. Im letzten Schritt wurde die Doppelbindung wiederum mit Palladium auf Kohle in einer Wasserstoffatmosphäre hydriert. Ein Vergleich des Massenspektrums der entstandenen 7,10-Dimethyloxecan-2-one (**41**) mit dem des unbekannten Naturstoffes ergab keine Übereinstimmung (s. Abb. 32).

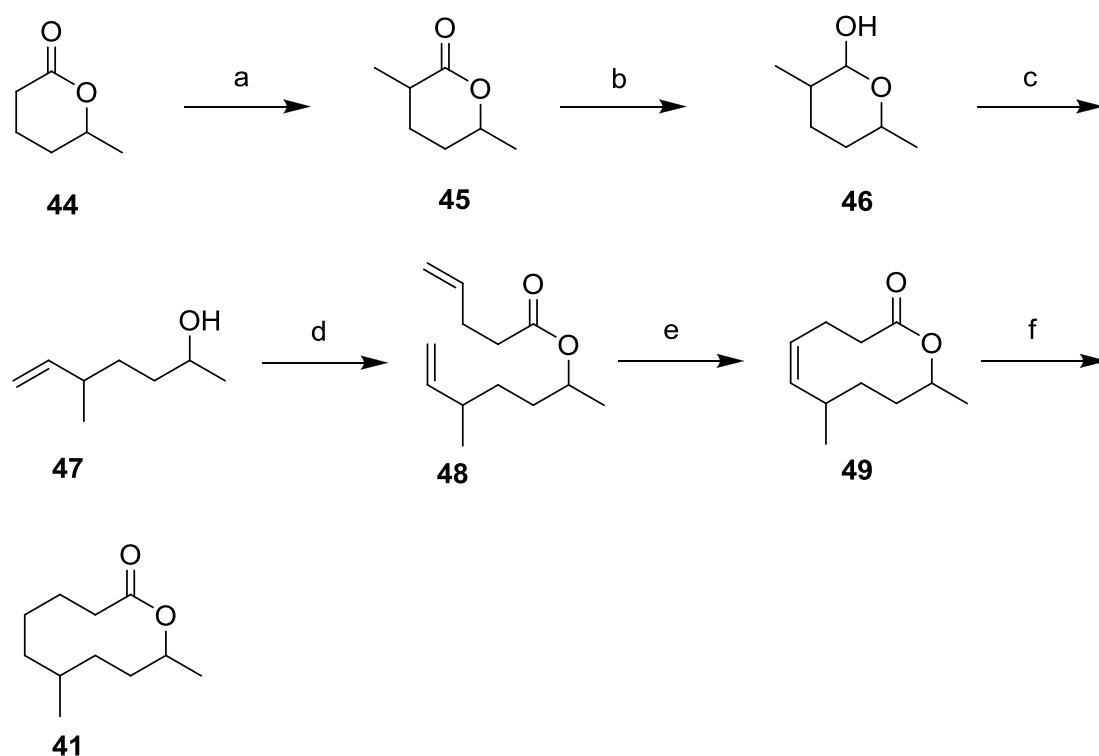


Abbildung 30: Synthese von 7,10-Dimethyloxecan-2-on (**41**): a) LDA, MeI, THF, 93 %; b) LAH, Et₂O, 56 %; c) MePPh₃Br, *n*BuLi, NaHMDS, THF, -78 °C bis RT, 31 %; d) 4-Pentensäure, EDC · HCl, DMAP, DCM, 0 °C, 3 h, 82 %; e) Hoveyda-Grubbs-II, C₆F₆, Toluol, 80 °C, 6 h, 48 %; f) H₂, 10 % Pd/C, MeOH, 5 h, 31 %.

Als nächstes wurde 5,10-Dimethyloxecan-2-on (**42**) als mögliche Zielstruktur überprüft (s. Abb. 31). Dazu wurde 3-Brompropionsäureethylester (**50**) mit Isopropenylmagnesiumbromid unter Kupferkatalyse zu 4-Methylpent-4-ensäureethylester (**51**) gekuppelt. Eine Verseifung des Esters **51** mit KOH lieferte die entsprechende Säure **52**. Die Veresterung der Säure **52** mit Hept-6-en-2-ol (**53**) führte zum ungesättigten Ester **54**. Dieser konnte anschließend in einer Ringschlussmetathese mit dem Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator zum ungesättigten Lakton **55** zyklisiert werden. Nach der folgenden Reduktion wurde 5,10-Dimethyloxecan-2-on (**42**) erhalten. Diesmal lieferte der Massenspektrenvergleich mit dem Naturstoff eine sehr gute Übereinstimmung (s. Abb. 32).

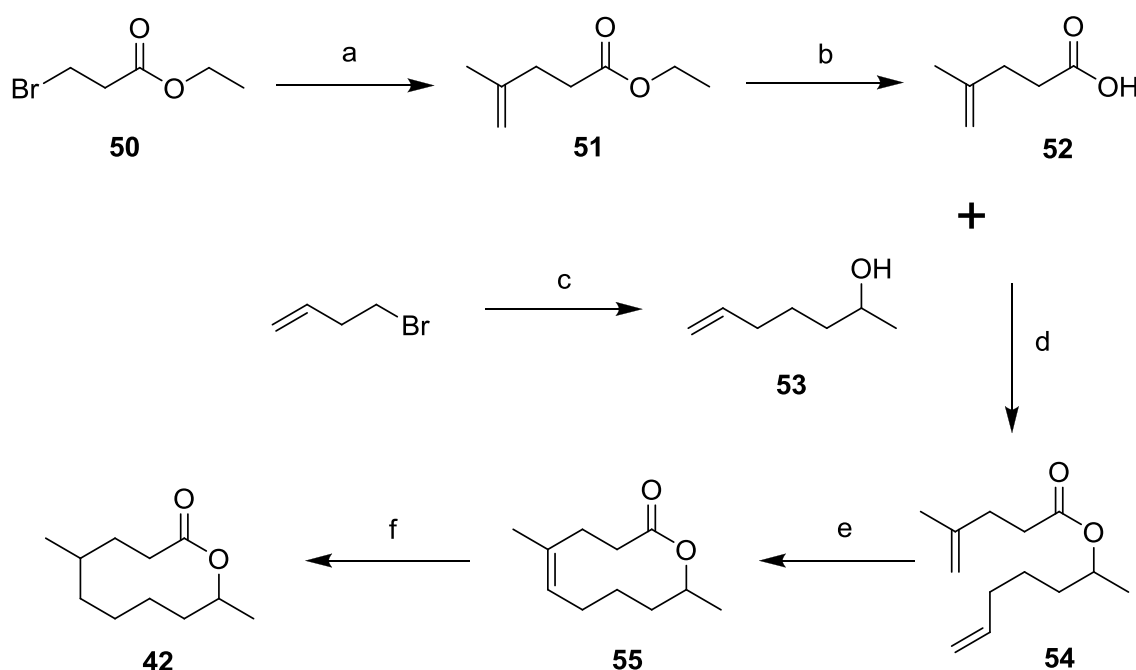


Abbildung 31: Synthese von 5,10-Dimethyloxecan-2-on (**42**): a) Li_2CuCl_4 , Isopropenylmagnesiumbromid, THF, 0 °C, 12 h, 77 %; b) KOH, EtOH, H_2O , 4 h, 80 %; c) Mg, Et_2O , ii) CuCN iii) Propylenoxid, 0 °C, 12 h, 81 %; d) **3**+**5**, EDC·HCl, DMAP, DCM, 0 °C, 3 h, 75 %; e) Hoveyda-Grubbs-II, C_6F_6 , Toluol, 80 °C, 3 h, 80 %; f) H_2 , 10 % Pd/C, MeOH, 5 h, 59 %.

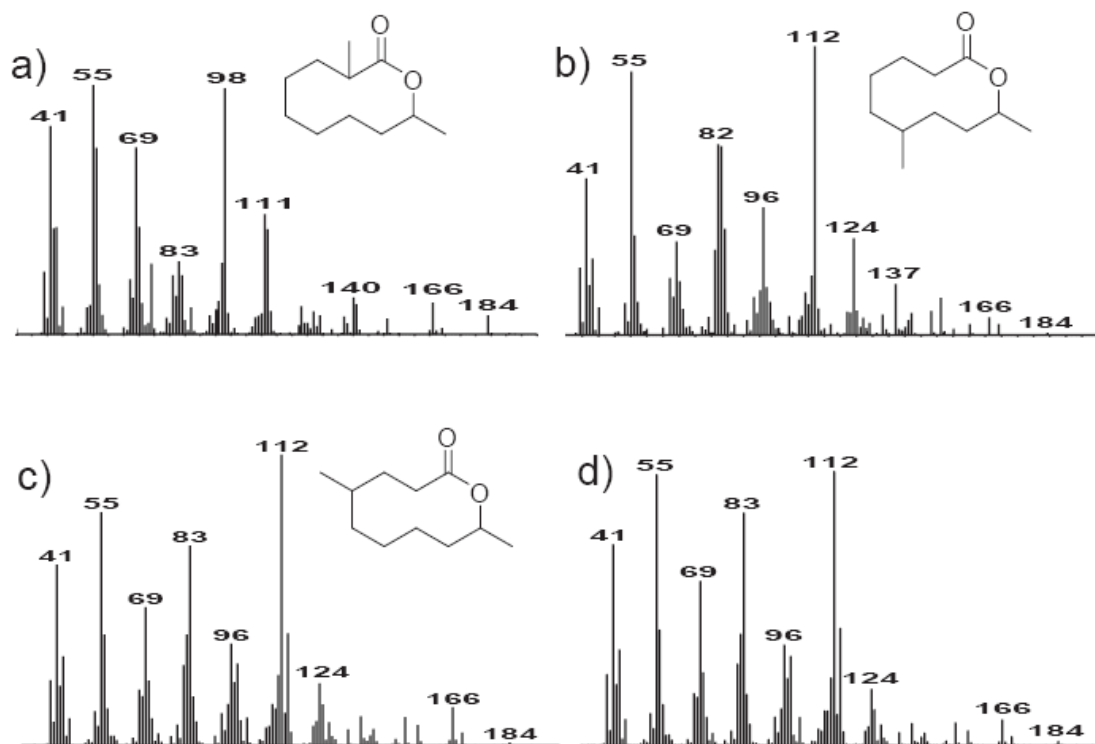


Abbildung 32: Massenspektren der Makrolidzielstrukturen: a) 3,10-Dimethyloxecan-2-on; b) 7,10-Dimethyloxecan-2-on; c) 5,10-Dimethyloxecan-2-on; d) natürliches Mantidactolid A.

Nachdem die relative Konfiguration des Naturstoffes bestimmt werden konnte, wurden zur Aufklärung der absoluten Konfiguration alle vier Enantiomere von **42** über eine stereoselektive Syntheseroute hergestellt. Diese ist für das (5*R*,10*S*)-Enantiomer in Abbildung 33 dargestellt. Dieser bisher nicht beschriebene Naturstoff wird im Folgenden als Mantidactolid A bezeichnet.

Ausgehend vom (+)-(β)-Citronellen (**56**) wurde durch selektive Epoxidierung der höher substituierten Doppelbindung das Epoxid **57** erhalten. Dieses wurde durch eine Lemieux-Johnson-Oxidation in den Aldehyd **58** überführt^[68], welcher im nächsten Schritt durch eine Jones-Oxidation weiter zur Säure **59** oxidiert wurde. Der chirale Alkohol **60** wurde durch kupfervermittelte Kupplung von 4-Brombut-1-en (**61**) an (*R*)-Propylenoxid synthetisiert und anschließend mit der Säure **59** zum ungesättigten Ester **62** verestert. Die nachfolgende Ringschlussmetathese mit dem Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator lieferte das ungesättigte Lakton **63**, welches im letzten Schritt durch Hydrierung in das gewünschte Mantidactolid A (**42**) überführt wurde.

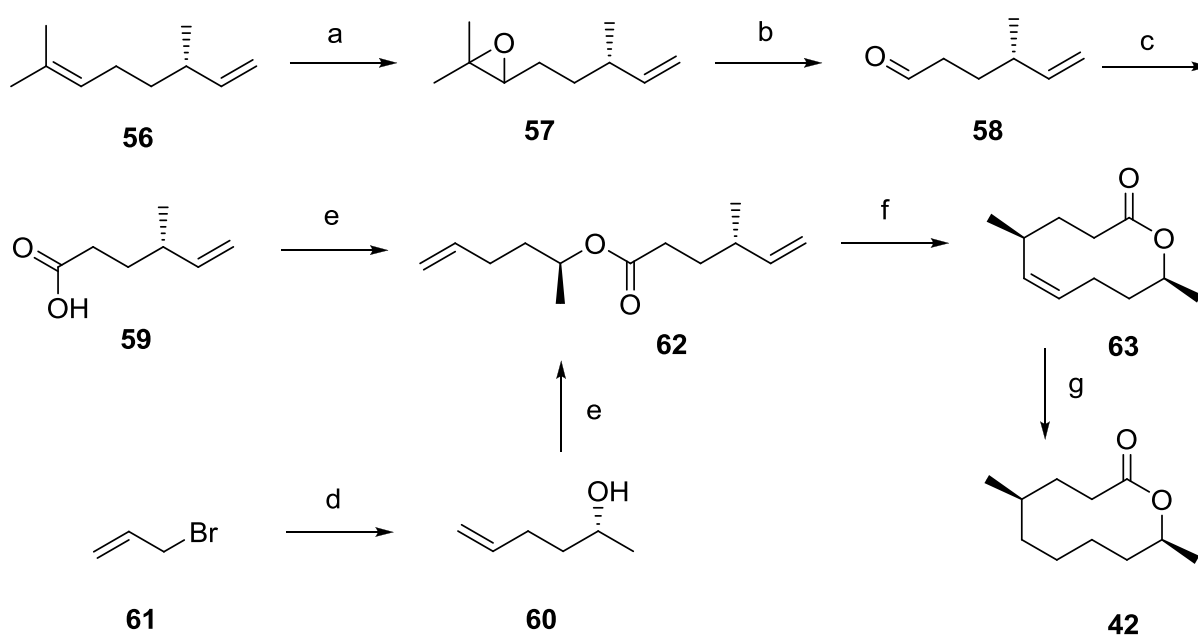


Abbildung 33: Synthese von (5*R*,10*S*)-Mantidactolid A (**42**): a) *m*CPBA, NaOAc, DCM, 2 h, 90 %; b) NaIO₄, Dioxan, H₂O, 24 h, 94 %; c) CrO₃, H₂SO₄, Aceton, 10 min, 49 %; d) i) Mg, Et₂O, ii) CuCN iii) (*S*)-Propylenoxid, 0 °C, 12 h, 51 %; e) **59** + **60**, EDC·HCl, DMAP, DCM, 0 °C, 3 h, 92 %; f) Hoveyda-Grubbs-II, C₆F₆, Toluol, 80 °C, 3 h, 69 %; g) H₂, 10 % Pd/C, MeOH, 5 h, 74 %.

3.1.3.4 Chirale Gaschromatographie

Durch gaschromatographische Experimente auf einer chiralen Lipodex-G-Phase konnte die absolute Konfiguration von Mantidactolid A (**42**) aufgeklärt werden (s. Abb. 34). Dazu wurde zunächst eine Mischung aller Enantiomere hergestellt (g) und anschließend die Peakidentitäten durch Koinjektion dieser Mischung mit jeweils einem Enantiomer bestimmt (c-f). Daraufhin wurde eine Koinjektion des Naturstoffes mit der Enantiomerenmischung durchgeführt (b). Hier konnte eine Vergrößerung der Peakfläche des letzten Peaks beobachtet werden, welcher dem (5*R*,10*S*)-Enantiomer zugeordnet wurde. Dadurch wurde gezeigt, dass das in *Mantidactylus femoralis* vorkommende Mantidactolid A (**42**) in der (5*R*,10*S*)-Konfiguration vorliegt. Auch die Übereinstimmung der Retentionszeit des synthetischen und des natürlichen Mantidactolid A bestätigte dies (a).

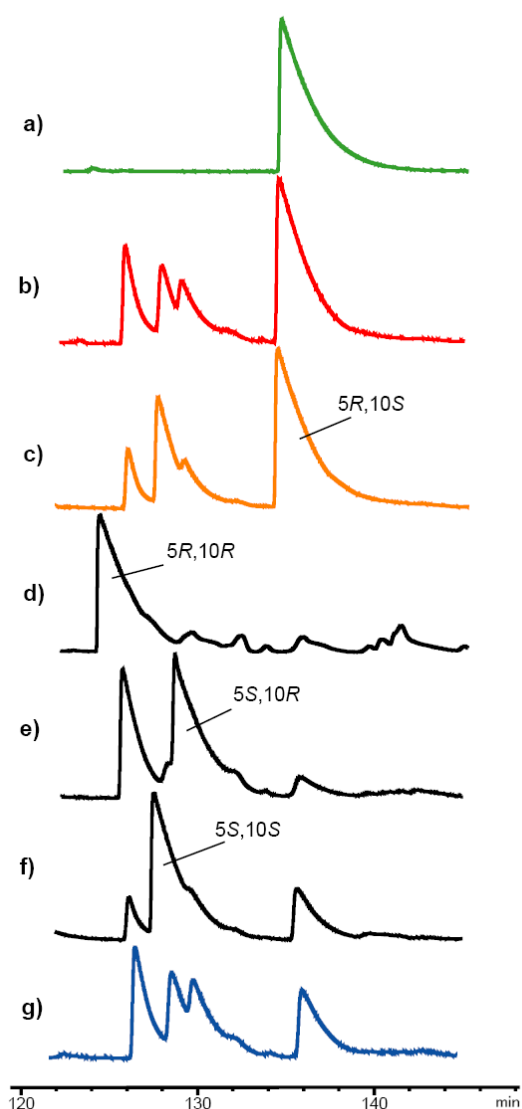


Abbildung 34: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Mantidactolid A (**42**) aus *Mantidactylus femoralis* durch chirale Gaschromatographie auf einer Lipodex-G-Phase: a) natürliches Mantidactolid A, b) Koinjektion der Mischung aller Enantiomere und des natürlichen Mantidactolid A, c) Koinjektion der Mischung aller Enantiomere und des (5*R*,10*S*)-Enantiomers, d) Koinjektion der Mischung aller Enantiomere und des (5*R*,10*R*)-Enantiomers, e) Koinjektion der Mischung aller Enantiomere und des (5*S*,10*R*)-Enantiomers, f) Koinjektion der Mischung aller Enantiomere und des (5*S*,10*S*)-Enantiomers, g) Mischung aller Enantiomere.

3.1.3.5 Fragmentierungsmechanismus

Durch die genauere Untersuchung der Fragmentierungen der verschiedenen 10-Ringlaktone konnte ein Mechanismus postuliert werden, der die Entstehung des jeweiligen Basisions der Massenspektren erklärt (Abb. 35).

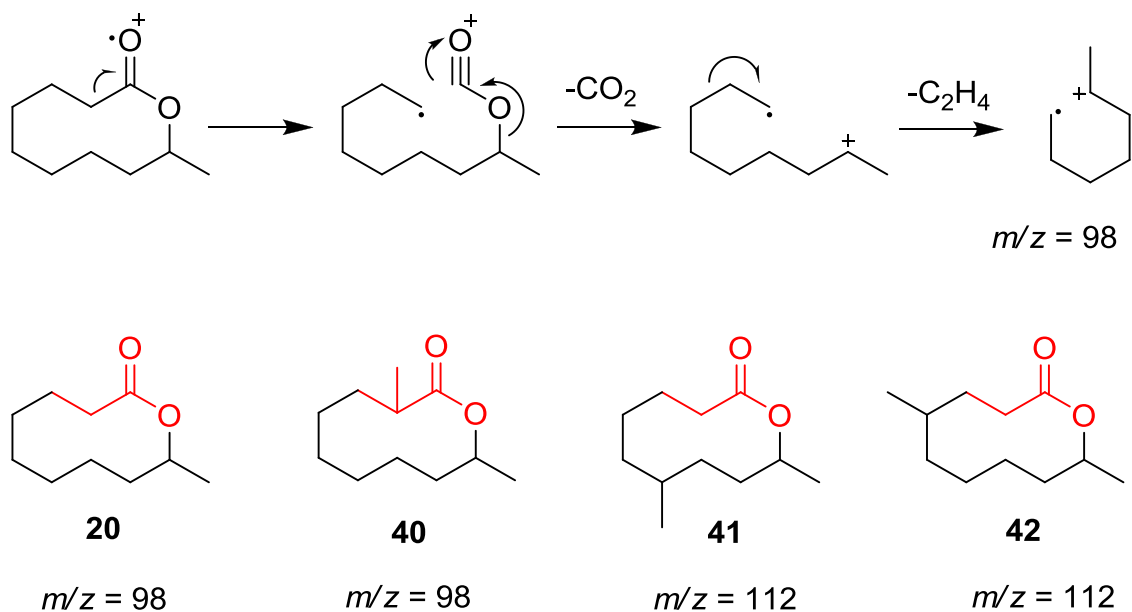


Abbildung 35: Vorgeschlagener Fragmentierungsmechanismus der untersuchten 10-Ringlaktone: **20**) Phoracantholid I; **40**) 3,10-Dimethyloxecan-2-on; **41**) 7,10-Dimethyloxecan-2-on; **42**) 5,10-Dimethyloxecan-2-on.

Hierbei wird zunächst ein Elektron am Carbonylsauerstoff abstrahiert. Dann verschiebt sich durch einen Elektronentransfer das Radikal unter Ringspaltung. Danach kann Kohlenstoffdioxid aus dem Molekül abgespalten werden. Das so entstandene Radikal kann im Folgenden eine Ethyleneinheiten abspalten, um eine stabilisierte Konfiguration zu erhalten. Die positive Ladung und das Radikalzentrum sind nun in der gezeigten 6-Ringanordnung direkt benachbart und somit stabilisiert. Durch diesen Mechanismus lässt sich nicht nur die Entstehung der Basisionen der untersuchten Laktone erklären, sondern auch für andere 10-Ringlaktone Vorraussagen über ein mögliches Substitutionsmuster machen.

3.1.3.6 Strukturaufklärung weiterer Verbindungen aus *M. femoralis*

Eine Analyse weiterer Femoraldrüsenextrakte von *Mantidactylus femoralis* zeigte ein überraschendes Ergebnis. So enthielten die Extrakte von unterschiedlichen Fundorten verschiedene Mischungen flüchtiger Verbindungen, die zum Teil noch nicht identifiziert waren. In Abbildung 36 ist das Chromatogramm des Femoraldrüsenextraktes eines *Mantidactylus femoralis* Frosches dargestellt, der in Bemanevika gefangen wurde.

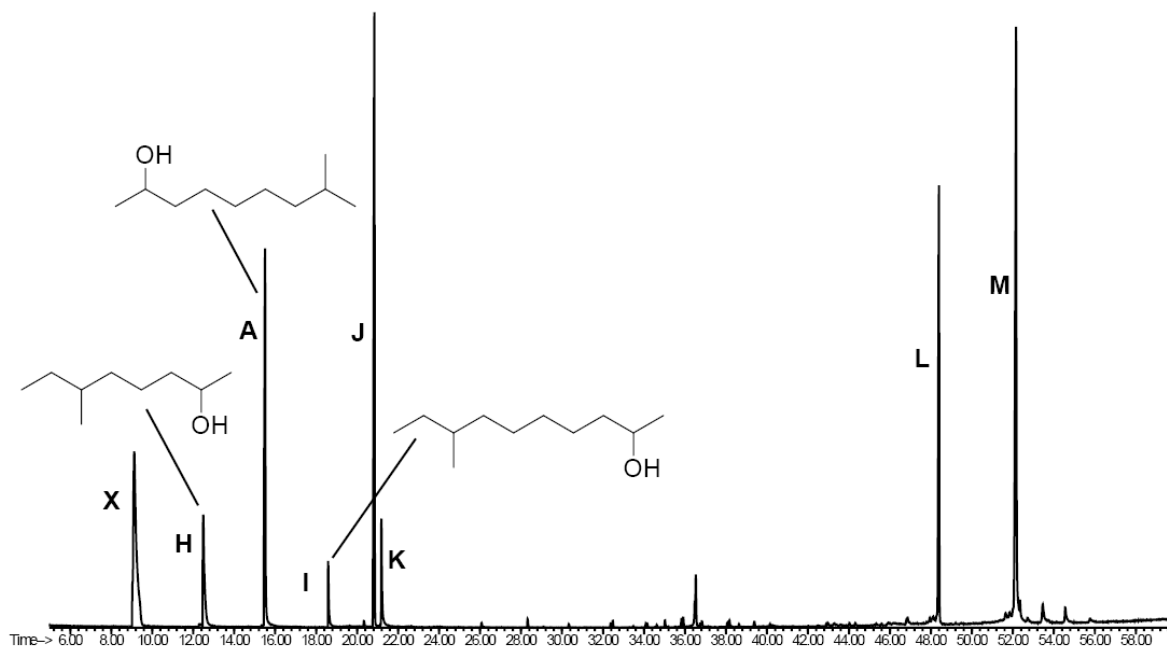


Abbildung 36: Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Mantidactylus femoralis* aus Bemanevika. Neben den bereits bekannten Verbindungen **X** (Artefakt, 4,4,4-Trichlorbutanol), **A** (8-Methylnonan-2-ol (**9**)), **L** (Squalen) und **M** (Cholesterol) treten hier eine Reihe von bislang unbekannten flüchtigen Verbindungen **H**, **I**, **J**, **K** auf.

In diesem Extrakt kamen neben 8-Methylnonan-2-ol vier flüchtige Verbindungen in hohen Konzentrationen vor. Bei den Verbindungen **J** und **K**, deren Massenspektren in Abbildung 37 dargestellt sind, handelt es um bisher noch unbekannten Verbindungen deren Struktur in Zukunft noch aufgeklärt werden muss. Verbindung **J** hat wahrscheinlich eine makrolide Struktur. Das ausgeprägte Fragmentation $m/z = 98$ im Massenspektrum und der Retentionsindex (RI = 1342) lassen darauf schließen, dass es sich bei Verbindung **J** um ein 11-Ringlaktone handelt, welches einen Methylsubstituenten trägt. Dies muss in Zukunft durch die Durchführung einer geeigneten Synthese aufgeklärt werden. Bei Verbindung **K** handelt es sich wahrscheinlich um einen ungesättigten, primären Alkohol mit der Masse 170.

Die Position der Doppelbindung könnte in weiteren Arbeiten durch Derivatisierung bestimmt werden, um anschließend den erhaltenen Strukturvorschlag durch eine Totalsynthese zu überprüfen.

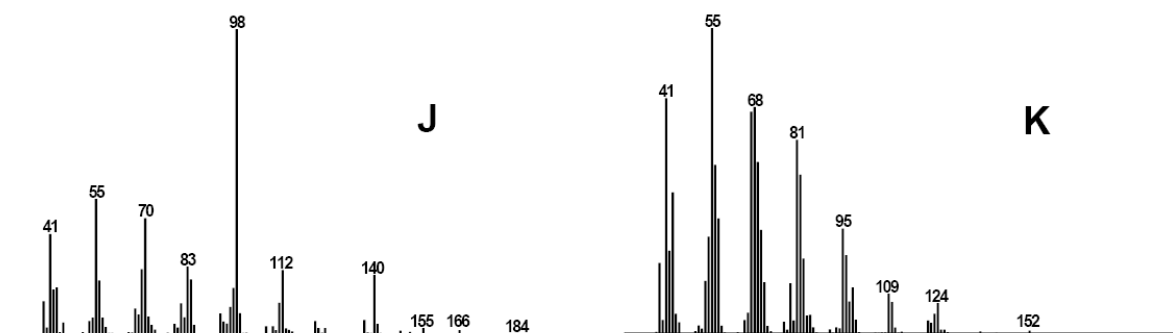


Abbildung 37: Massenspektren der unbekannten Verbindungen **J** und **K** aus *Mantidactylus femoralis*.

Die Verbindungen **H** und **I** weisen Massenspektren auf, die dem von 8-Methylnonan-2-ol (**9**) sehr ähneln. Es wurde folglich angenommen, dass es sich bei diesen beiden Verbindungen auch um (ω -1)-methylverzweigte Alkohole handelt, die eine andere Kettenlänge besitzen. Der Strukturvorschlag für **H** konnte durch die in Abbildung 38 gezeigte Synthese überprüft werden.

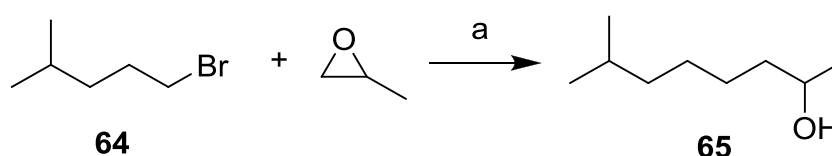


Abbildung 38: Synthese von 7-Methyloctan-2-ol (**65**): a) i) Mg, Et₂O; ii) CuCN, THF; iii) Propylenoxid, 12 h, 0 °C, 90 %.

Hier wurde zunächst aus 1-Brom-4-methylpentan (**64**) die entsprechende Grignardverbindung hergestellt, welche anschließend unter Kupferkatalyse mit Propylenoxid zum gewünschten Alkohol **65** umgesetzt werden konnte.

Der Vergleich des Massenspektrums mit dem des Naturstoffes zeigte leichte Unterschiede (s. Abb. 39), und auch der Retentionsindex von 1070 lag leicht über dem des Naturstoffes (RI = 1066).

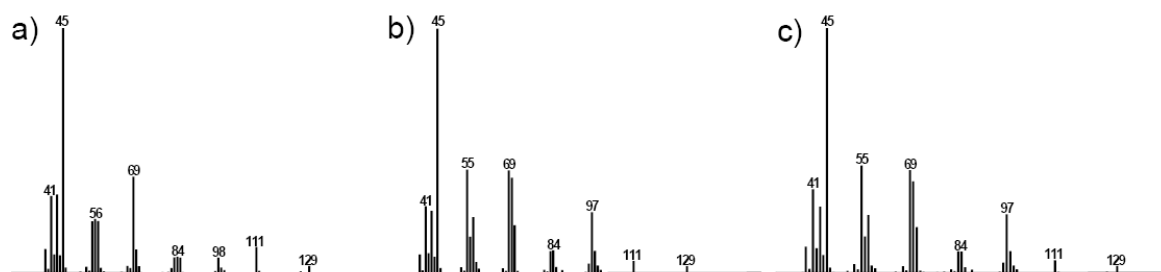


Abbildung 39: Massenspektren der C9-Alkohole: a) synthetisches 7-Methyloctan-2-ol, b) natürliches 6-Methyloctan-2-ol, c) synthetisches 6-Methyloctan-2-ol.

Im Naturstoff tritt das Fragment mit der Masse $m/z = 97$ auf, welches beim 7-Methyloctan-2-ol (**65**) nicht beobachtet werden kann. Dieses Fragment entsteht durch die Abspaltung von Wasser und anschließend einer C_2H_5 -Einheit (s. Abb. 40). Dies ist ein für (ω -2)-verzweigte Alkohole typische Fragmentierung. Beim 7-Methyloctan-2-ol (**65**) ist dagegen das Fragment $m/z = 111$ ausgeprägter, dass durch eine Abspaltung von Wasser und einer Methylgruppe entsteht. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für den Naturstoff die Struktur 6-Methyloctan-2-ol vorgeschlagen.

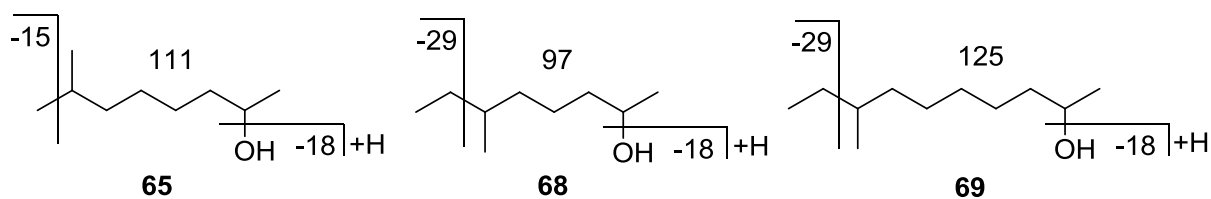


Abbildung 40: Charakteristische Fragmentierung von 7-Methyloctan-2-ol (**65**), 6-Methyloctan-2-ol (**68**), 8-Methyldecan-2-ol (**69**).

Dieser Strukturvorschlag konnte durch die in Abbildung 41 gezeigte Synthese bestätigt werden. Hier wurde zunächst 3-Methylpentanol (**66**) in das entsprechende Bromid **67** überführt. **67** konnte dann wiederum unter Kupferkatalyse mit Propylenoxid gekuppelt werden, um den gewünschten Alkohol **68** zu erhalten. Das Massenspektrum entsprach dem des Naturstoffes.

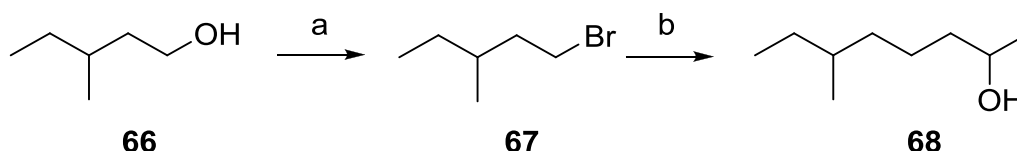


Abbildung 41: Synthese von 6-Methyloctan-2-ol (**68**): a) i) PBr_3 , Pyridin, Et_2O , 2 d, 80 %; b) i) Mg , Et_2O ; ii) CuCN , THF; iii) Propylenoxid, 12 h, 0 °C, 64 %.

Für den anderen unbekannten Alkohol **C** wurde aufgrund dieser Überlegungen die Struktur 8-Methyldecan-2-ol vorgeschlagen, da auch dieser aufgrund der ausgeprägten Abspaltung von 47 Masseneinheiten eine (ω -2)-Methylverzweigung aufweisen muss.

3.1.3.7 8-Methyldecan-2-ol

Um die Strukturen der Alkohole überprüfen zu können, wurde eine Totalsynthese entwickelt, bei der alle Enantiomere gezielt hergestellt werden können. Die Syntheseroute von 8-Methyldecan-2-ol (**69**) ist in Abbildung 42 dargestellt.

Hier wurde kommerziell erhältliches Buttersäurechlorid (**70**) zunächst mit dem Evans-Auxiliar (*S*)-4-Phenyloxazolidin-2-on gekuppelt. Durch stereoselektive Methylierung des Evans-Amids mit LDA/MeI wurde (*S*)-4-Benzyl-3-((*S*)-2-methylbutanoyl)oxazolidin-2-on (**71**) erhalten. Verbindung **71** wurde dann mit LAH zum entsprechenden Alkohol reduziert, welcher anschließend durch die Reaktion mit *p*-Tosylchlorid in das Tosylat **72** überführt wurde. Aus **72** wurde in einer kupfervermittelten Grignardreaktion mit Hex-5-enylmagnesiumbromid das Alken **73** hergestellt. In einer Wacker-Oxidation wurde anschließend die Doppelbindung oxidiert und es entstand das Keton **74**. Nach einer Reduktion von **74** mit LAH wurde der Alkohol **69** erhalten. Die Enantiomere von **69** konnten durch eine enzymatische Reaktion getrennt werden. Das verwendete Enzym *Candida antartica* Lipase wandelt bevorzugt den (2*R*,8*S*)-Alkohol in den entsprechenden Essigsäureester **75** um^[69], wobei der Alkohol mit der (2*S*,8*S*)-Konfiguration nicht reagiert und abgetrennt werden kann. Eine anschließende Esterhydrolyse von **75** lieferte schließlich auch den gewünschten (*R,S*)-Alkohol mit einem Enantiomerenüberschuss von über 99 %. Für den unreaktierten (2*S*,8*S*)-Alkohol wurde ein ee von 80 % ermittelt.

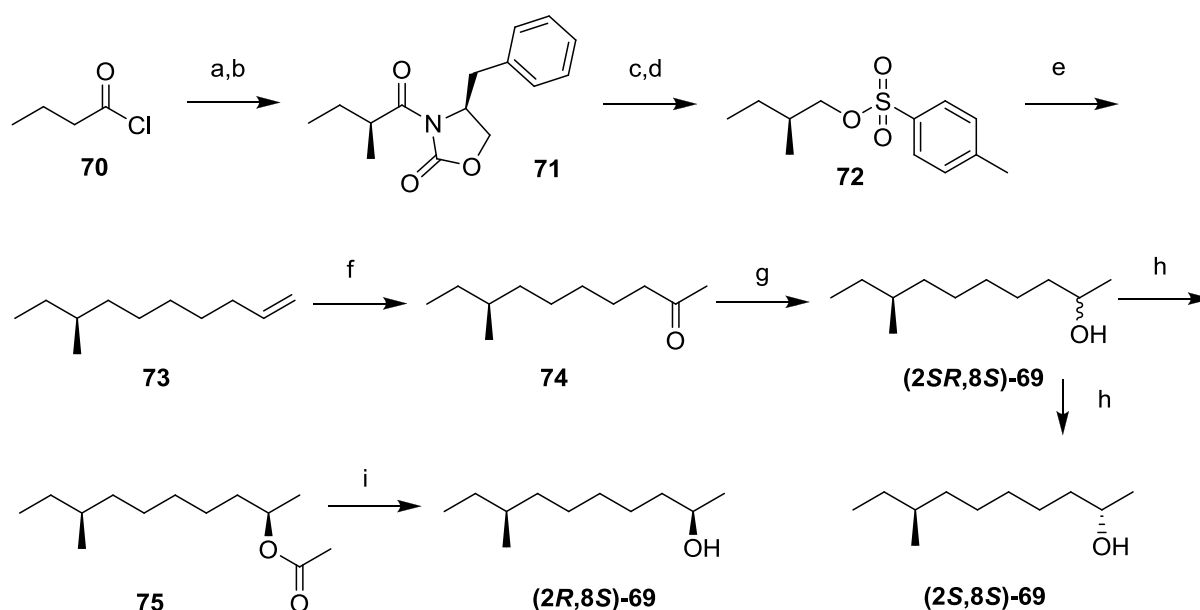


Abbildung 42: Synthese von (2R,8S)-8-Methyldecan-2-ol (**69**) aus *Mantidactylus femoralis*:

a) (S)-4-Phenyloxazolidin-2-on, *n*BuLi, THF, -78 °C to RT, 12 h, 92 %; b) LDA, MeI, THF, -78 °C to RT, 12 h, 89 %; c) LAH, EtO₂, RT, 2 h, 51 %; d) Pyridin, TsCl, DCM, 1 h, 95 %; e) Hex-5-enylmagnesiumbromid, Li₂CuCl₄, 0 °C, 24 h, 53 % f) PdCl₂, Cu(OAc)₂, O₂, DMSO, H₂O, 72 h, 85 %; g) LAH, EtO₂, RT, 2 h, 88 %; h) Vinylacetat, *Candida antarctica* Lipase, Hexan, 35 °C, 12 h, 73 %; i) NaH, MeOH, 0 °C, 3 h, 66 %.

Der Vergleich der Massenspektren von synthetischem Material mit dem Naturstoff zeigte eine sehr gute Übereinstimmung (s. Abb. 43). Auch der für das synthetische Produkt bestimmte Retentionsindex (RI = 1269) hatte nur eine sehr geringe Abweichung zu dem des Naturstoffes (RI = 1267). Durch ein Koinjektionsexperiment konnte abschließend bestätigt werden, dass es sich bei dem in *Mantidactylus femoralis* gefundenen C11-Alkohol um 8-Methyldecan-2-ol (**69**) handelt. Durch eine Synthese der anderen Enantiomere könnte in Zukunft die absolute Konfiguration des Naturstoffes durch anschließende chirale gaschromatographische Untersuchungen aufgeklärt werden.

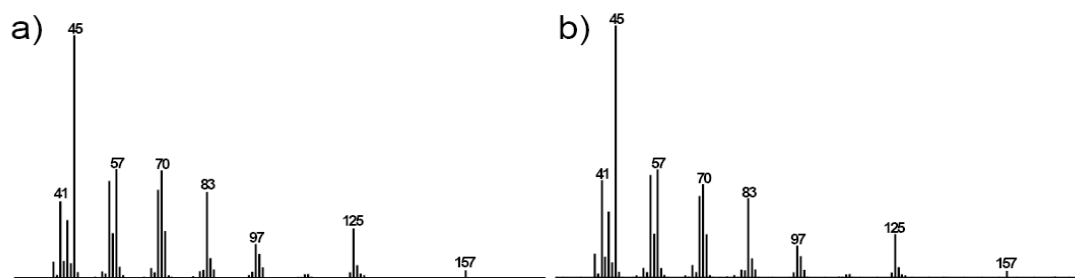


Abbildung 43: Massenspektrum von 8-Methyldecan-2-ol: a) natürliches 8-Methyldecan-2-ol, b) synthetisches 8-Methyldecan-2-ol.

3.1.3.8 6-Methyloctan-2-ol

Um die absolute Konfiguration des natürlichen 6-Methyloctan-2-ol überprüfen zu können wurde eine enantioselektive Synthese entwickelt, die auf der Synthese von 8-Methyldecan-2-ol (**69**) aufbaut (s. Abb. 44). Hier konnte nach der von NAKAMURA et al.^[70] beschriebenen Route aus dem schon in der vorhergehenden Synthese verwendeten Tosylat **72** (*S*)-1-Bromo-3-methylpentan (**79**) hergestellt werden. Dazu wurde **72** zunächst durch die Reaktion mit Natriumcyanid in das entsprechende Cyanid **76** überführt. Eine Oxidation von **76** mit Schwefelsäure lieferte die Säure **77**. Diese wurde anschließend mit LAH zum (*S*)-3-Methylpentan-1-ol (**78**) reduziert. Dann wurde zunächst das entsprechende Tosylat hergestellt, welches mit LiBr in das gewünschten Bromid **79** überführt werden konnte. Das (*S*)-1-Bromo-3-methylpentan (**79**) wurde anschließend in die entsprechende Grignard-Verbindung umgewandelt und in einer durch Kupfercyanid vermittelten Kupplungsreaktion an (*S*)-Propylenoxid addiert. Als Produkt wurde (2*S*,6*S*)-6-Methyloctan-2-ol (**68**) erhalten.

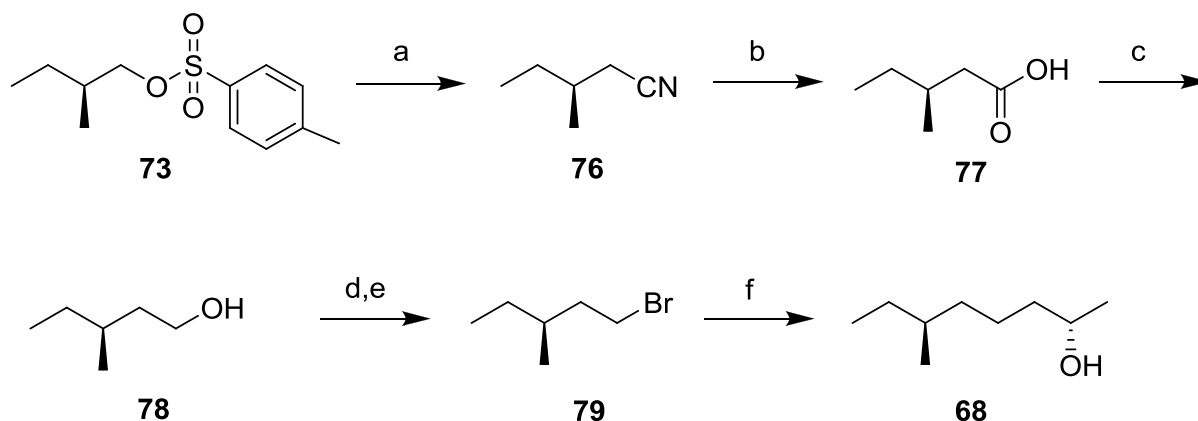


Abbildung 44: Synthese von (2*S*,6*S*)-6-Methyloctan-2-ol (**68**) aus *Mantidactylus femoralis*:
a) NaCN, DMSO, RT, 72 h, 40 %; b) H₂SO₄, H₂O, Rückfluss, 12 h, 89 %; c) LAH, EtO₂, RT, 49 %; d) Pyridin, TsCl, DCM, 1 h, 90 %; e) LiBr, DMF, RT, 5 h, 39 %; f) i) Mg, Et₂O, ii) CuCN iii) (*S*)-Propylenoxid, 0 °C, 12 h, 64 %.

Das Massenspektrum der synthetischen Verbindung entsprach dem des Naturstoffes (s. Abb. 39). Ein Vergleich des Retentionsindices und ein Koinjektionsexperiment bestätigte, dass es sich bei dem Naturstoff um 6-Methyloctan-2-ol (**68**) handelt.

Für eine Bestimmung der absoluten Konfiguration des Naturstoffes müssen in Zukunft alle Enantiomere des 6-Methyloctan-2-ol hergestellt werden. Dann kann eine gaschromatographische Trennung auf einer chiralen Phase durchgeführt werden.

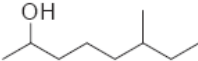
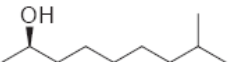
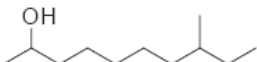
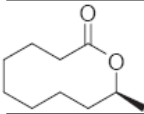
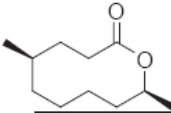
3.1.3.9 Geographische Analyse der Femoraldrüsenextrakte

Insgesamt wurden die Drüsenextrakte von 17 Individuen von *Mantidactylus femoralis* mittels GC/MS untersucht. Die Zugehörigkeit der einzelnen Individuen zu dieser Art wurde anschließend durch genetische Untersuchungen von PROF. M. VENCES überprüft, da sich die Zusammensetzung der flüchtigen Verbindungen in den Proben stark unterschieden. Dabei stellte sich heraus, dass insgesamt 12 der 17 Individuen, zwischen denen zum Teil allerdings erhebliche genetische Unterschiede bestehen, tatsächlich zur selben Art gehörten und die Unterschiede im Pheromonprofil auf die verschiedenen Fundorte zurückzuführen sind. Vier der restlichen Tiere können in eine neue Variante innerhalb des Artenkomplexes um *Mantidactylus femoralis* eingeordnet werden, bei der es sich möglicherweise um eine noch unbeschriebene Art handelt. Ein Tier gehört laut den genetischen Daten zu dem nahe verwandten *Mantidactylus mocquardi* und wurde wahrscheinlich im Feld falsch identifiziert. Das Vorkommen der identifizierten, flüchtigen Verbindungen von acht *Mantidactylus femoralis* Individuen ist in Tabelle 2 dargestellt. Die restlichen Proben, bei denen es sich um Kontrollproben der Extrakte von der Bauchhaut oder der Haut der Hinterschenkel der Weibchen handelt, enthielten keine Verbindungen und sind nicht aufgeführt. In Abbildung 45 sind die Fundorte der entsprechenden Tiere auf der Karte von Madagaskar markiert.

Die vier Alkohole **a**, **b**, **c** und **d** konnten in allen Extrakten, außer in denen aus Vohiparara (blau) und Fotsialanana (grau), nachgewiesen werden. Der Drüsenextrakt aus Angozongahy (gelb) enthält nur das schon aus *Mantidactylus multiplicatus* bekannte 8-Methylnonan-2-ol, wohingegen in den Proben von den Fundorten Analabe (rot) und Bemanevika (grün) alle vier Alkohole enthalten sind. Hier unterscheiden sich nur die Konzentrationen der Verbindungen, die Alkohole **b** und **c** treten in den Extrakten von Fundort 2, im Vergleich zu 3, nur in geringen Mengen auf. Insgesamt ist 8-Methyldecan-2-ol (**c**) und Alkohol **d** in deutlich geringeren Mengen enthalten, als die anderen beiden Alkohole.

Phoracantholid I (**e**) konnte nur in den Proben von Fundort 4 und 5 nachgewiesen werden. Das unbekannte Makrolid (**f**) war in den Extrakten von den Fundorten 2 und 3 enthalten, Dabei war die Konzentration in 3 hoch, verglichen mit der Konzentration von Fundort 2. Das Mantidactolid A (**g**) konnten nur in der Probe vom Fundort 5 nachgewiesen werden.

Tabelle 2: Vorkommen der identifizierten Verbindungen in den Femoraldrüsenextrakten von Individuen von *Mantidactylus femoralis* von verschiedenen Fundorten

		1	2	2	2	3	3	4	5
	a		x	o	x	xx	xx		
	b	x		o	o	xxx	xx		
	c				o	x	x		
	d		x	x	x	xx	x		
	e							xxx	xxx
	f		o	x	x	xxx	xxx		
	g								xxx

a) 6-Methyloctan-2-ol, **b)** 8-Methylnonan-2-ol, **c)** 8-Methyldecan-2-ol, **d)** unbekannter Alkohol, **e)** Phoracantholid I, **f)** unbekanntes Makrolid, **g)** Mantidactolid A (xxx= Hauptkomponenten, xx= Nebenkomponekte, x= Kleinstkomponente, o= Spur) Die Farben entsprechen den in Abbildung 45 farblich markierten Fundorten.



Abbildung 45: Karte von Madagaskar mit den Fundorten der verschiedenen Individuen von *Mantidactylus femoralis*: Markierungen: 1) Angozongahy (gelb), 2) Analabe (rot), 3) Bemanevika (grün), 4) Vohiparara (blau), 5) Fotsialanana (grau).

Die Zusammensetzung der Drüsenextrakte ist folglich von der geographischen Lage der Froschpopulation abhängig. Die drei am weitesten nördlich gelegenen Populationen speichern die vier verschiedenen Alkohole, welche in den beiden südlichen Populationen fehlen. Für Phoracantholid I ist das Gegenteil der Fall, es kommt nur in den Drüsen der beiden südlich gelegenen Populationen vor. Das unbekannte Makrolid (**f**) kommt nicht in der weit im Südosten beheimateten Population vor. In allen Individuen aus dem Norden kann diese Verbindungen aber nachgewiesen werden, fehlt aber in dem einzelnen Exemplar aus Angozongahy.

Diese Befunde hängen wahrscheinlich mit den unterschiedlichen Lebensbedingungen der Populationen zusammen. Alle Fundorte liegen in der subhumiden Klimazone, die sich an den humiden dichten Regenwald, der entlang der Ostküste verläuft, anschließt. Dort gibt es aber lokal bedingte Unterschiede im Nahrungsangebot und auch in der Vergesellschaftung mit andern Arten. Die unterschiedliche Nahrungsauswahl ist wahrscheinlich nicht entscheidend, da angenommen wird, dass die Frösche die in ihren Femoraldrüsen enthaltenen Pheromone selbst produzieren. Jedoch kann sich eine unterschiedliche Diät auf das Konzentrationsverhältnis der enthaltenen Verbindungen auswirken, da eventuell auch Biosynthesestufen, wie Fettsäuren oder Aminosäuren, unterschiedlich verfügbar sein könnten.

3.1.4 *Gephyromantis redimitus*

3.1.4.1 Allgemeines

Gephyromantis redimitus ist im gesamten Osten Madagaskars in der Nähe von Wasserläufen im Regenwald anzutreffen. Die Tiere erreichen eine Größe von 47-53 mm und bilden große, gut abgegrenzte Femoraldrüsen aus. Die Männchen rufen während der Dämmerung und nachts von Positionen aus der Vegetation in 1-2 m Höhe. Ihre charakteristischen Rufe bestehen aus gutturalen unharmonischen Lauten, die in regulären Intervallen auftreten^[24].



Abbildung 46: *Gephyromantis redimitus*. Foto: M. Vences

Das Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Gephyromantis redimitus* ist in Abbildung 47 dargestellt. Die zwei auftretenden Hauptbestandteile sind eine Verbindung mit der Molekülmasse 224 und Arachidonsäure. Da für den Naturstoff eine Makrolidstruktur angenommen wurde, bestand die Möglichkeit einer säulenchromatographische Isolation. Die Arachidonsäure hat durch ihre höhere Polarität eine längere Verweilzeit auf dem zur Trennung verwendeten Kieselgel und konnte so abgetrennt werden. Der aufgereinigte Naturstoff wurde dann mittels hochauflösender Massenspektrometrie untersucht und die Summenformel $C_{14}H_{24}O_2$ bestimmt (Masse = 224.1787 u, berechnet: 224.1776 u).

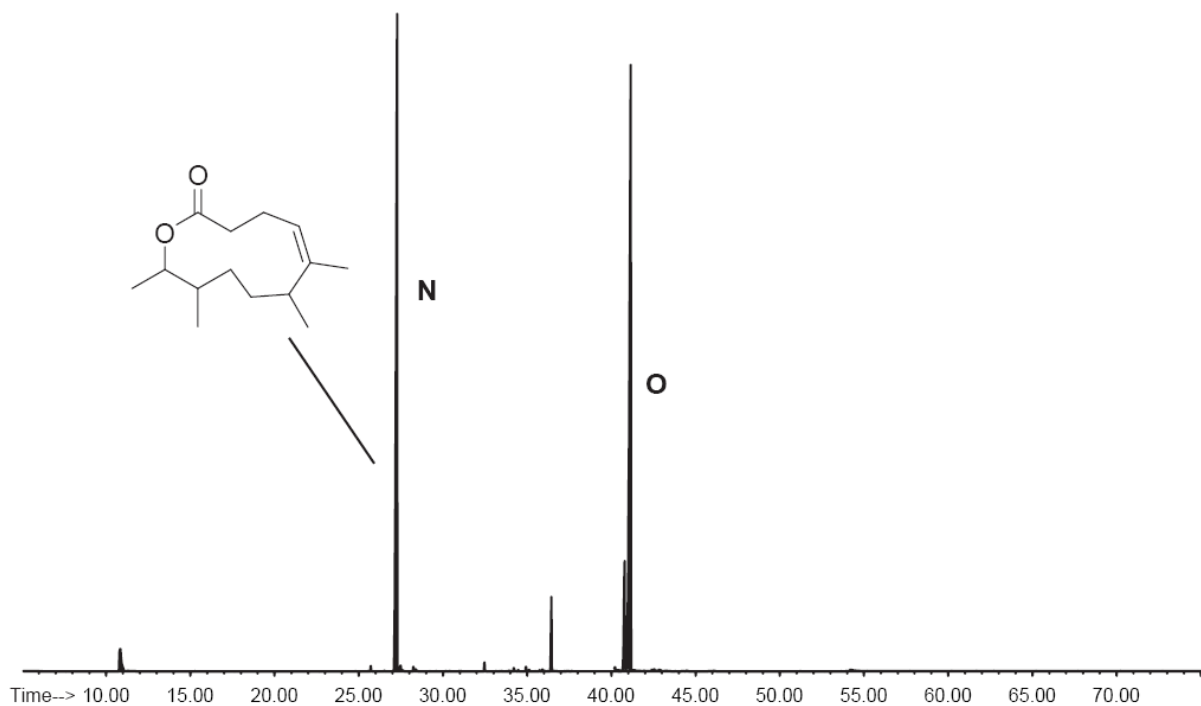


Abbildung 47: Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextrakts von *Gephyromantis redimitus*. Die beiden Hauptverbindungen sind ein bisher unbekannter Naturstoff **N** und Arachidonsäure (**O**).

3.1.4.2 NMR-Auswertung

Anschließend wurden extensive 2D-NMR Experimente durchgeführt. Zunächst wurden jedem Kohlenstoffatom die entsprechenden Protonen durch Auswertung des HSQC-Experiments zugeordnet. Danach konnten die im HMBC sichtbaren Kopplungen der Wasserstoffatome mit den benachbarten Kohlenstoffatomen und die HH-Kopplungen im HH-COSY aufgelistet werden (s. Tab. 3).

Tabelle 3: Zuordnung der ^{13}C - und ^1H -Signale und ihrer Kopplungen in den 2D-Experimenten

Atom Nr.	^{13}C NMR	^1H NMR	HMBC	COSY
			H to C	H to H
1	173.7			
2	34.9	2.14, 2.06	1, 3, 4, 5	1.88
3	25.8	2.65, 1.88	1, 2, 4, 5	2.14, 2.06, 1.88
4	124.4	5.14	6, 14	2.65, 1.88, 1.4
5	138.1			
6	47.2	2.03	7, 13, 14	1.35, 0.87
7	30.6	1.35, 0.92	6, 9, 8, 13	2.03, 1.43
8	27.6	1.43, 0.93	7, 12	1.35
9	36.3	1.49	11	0.92, 0.7
10	74.8	4.8	1, 11, 12	1.49, 0.92
11	12.6	0.92 d	9, 12	1.49
12	16.6	0.7 d	8, 9	1.49
13	19.8	0.87 d	5, 6, 7	2.03
14	10.7	1.4 s	4, 5, 6	5.14

Anhand der in dieser Tabelle aufgelisteten Informationen wurde, wie im Folgenden beschrieben, ein Strukturvorschlag erarbeitet. Das Kohlenstoffatom C-1 zeigte eine für Carbonylkohlenstoffe typische Verschiebung. Im HMBC war eine Kopplung zwischen C-1 und den Protonen an C-2 zu erkennen (s. Abb. 48). Diese besaßen außerdem eine für α -Carbonylprotonen charakteristische Verschiebung. Das direkt benachbarte C-3 wurde durch seine Kopplung mit den Protonen von C-2 identifiziert. Die zu C-3 gehörenden Protonen wiesen sowohl Kopplungen mit C-2 als auch mit C-1 auf. Die relativ hohe Verschiebung der C-3 Protonen ist auf die Nachbarschaft der Doppelbindung zurückzuführen. Denn auch zu dem bei $\delta = 124.4$ ppm liegenden Signal für das C-4 Kohlenstoffatom der Doppelbindung konnte eine Kopplung der C-3 Protonen beobachtet werden. Das charakteristische Proton an C-4 wies wiederum eine Kopplung mit dem benachbarten C-3, aber auch mit C-5 auf, welches das andere Kohlenstoffatom der Doppelbindung darstellt. Da C-5 laut HSQC keine Protonen trägt und die Verschiebung bei $\delta = 138.1$ ppm liegt, muss es einen Methylsubstituenten tragen. Die entsprechende Methylgruppe C-14 konnte durch die Kopplungen ihrer Protonen mit C-4 und C-5 identifiziert werden. Das Proton von C-6, des nächsten Kohlenstoffatoms im Ring, wies im HMBC keine Kopplung zu C-5 auf. C-6 konnte aber durch die Kopplungen der C-4 und C-14 Protonen zu C-6 bestimmt werden. Die relativ hohe Verschiebung von $\delta = 47.2$ ppm weist sowohl auf die Nachbarschaft zu Doppelbindung

als auch auf eine Methylsubstitution hin. Die Protonen der Methylgruppe C-13 zeigten eine Kopplung mit C-6, auch eine Kopplung des Protons von C-6 mit C-13 war vorhanden. Die Methylengruppe C-7 wurde durch die Kopplung mit dem Proton von C-6 bestimmt. C-7 wies außerdem eine Kopplung zu den Protonen der Methylgruppe C-13 auf. Die benachbarte Methylengruppe C-8 wurde durch die Kopplung mit den Protonen von C-7 zugeordnet. Der Kohlenstoff C-9 konnte durch die Kopplung mit den Protonen von C-7 und C-8 identifiziert werden. Da er laut HSQC nur ein Proton trägt, muss er einen Methylsubstituenten tragen. Durch eine Kopplung der Protonen der Methylgruppe C-12 mit C-9 konnte dies bestätigt werden. Das Kohlenstoffatom C-10 mit einer Verschiebung von $\delta = 74.8$ ppm muss sich in direkter Nachbarschaft zum Sauerstoffatom des Laktons befinden. Das zugehörige Proton mit einer Verschiebung von $\delta = 4.8$ ppm weist zwar keine Kopplung zu C-9 aber zu den Methylgruppen C-12 und C-11 und dem Carbonylkohlenstoff C-1 auf. Die verbleibende Methylgruppe C-11 konnte durch diese Kopplung zugeordnet werden und die Kopplungen der Protonen von C-11 mit C-9 und C-12 bestätigten ihre Position.

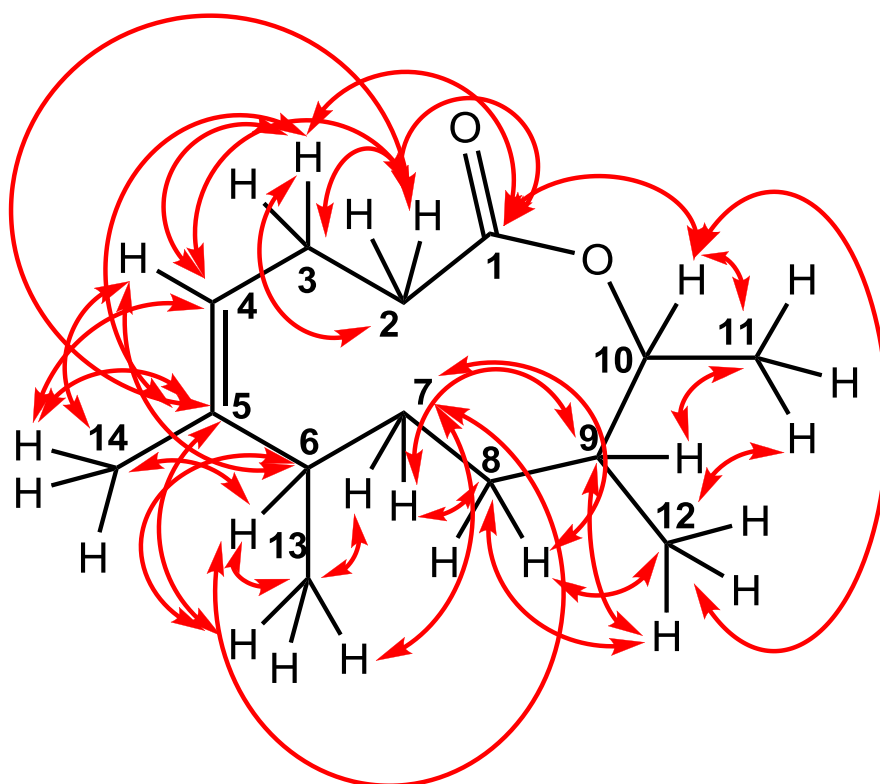


Abbildung 48: HMBC-Kopplungen im Gephyromantolid B.

Die aufgrund der HSQC und HMBC Daten postulierte Struktur wurde, wie im Folgenden beschrieben, durch die Korrelation mit dem HH-COSY Daten überprüft. Die HH-Kopplungen aus dem HH-COSY sind in Abbildung 49 dargestellt. Zunächst konnte die vorher noch nicht ausreichend bewiesene Nachbarschaft von C-9 und C-10 durch eine Kopplung der jeweiligen Protonen bestätigt werden. Auch die Positionen der Methylgruppen wurde durch die Kopplungen der Methylprotonen mit den Protonen der jeweils benachbarten Kohlenstoffe verifiziert. Außerdem sprechen alle weiteren auftretenden Kopplungen für die postulierte Struktur.

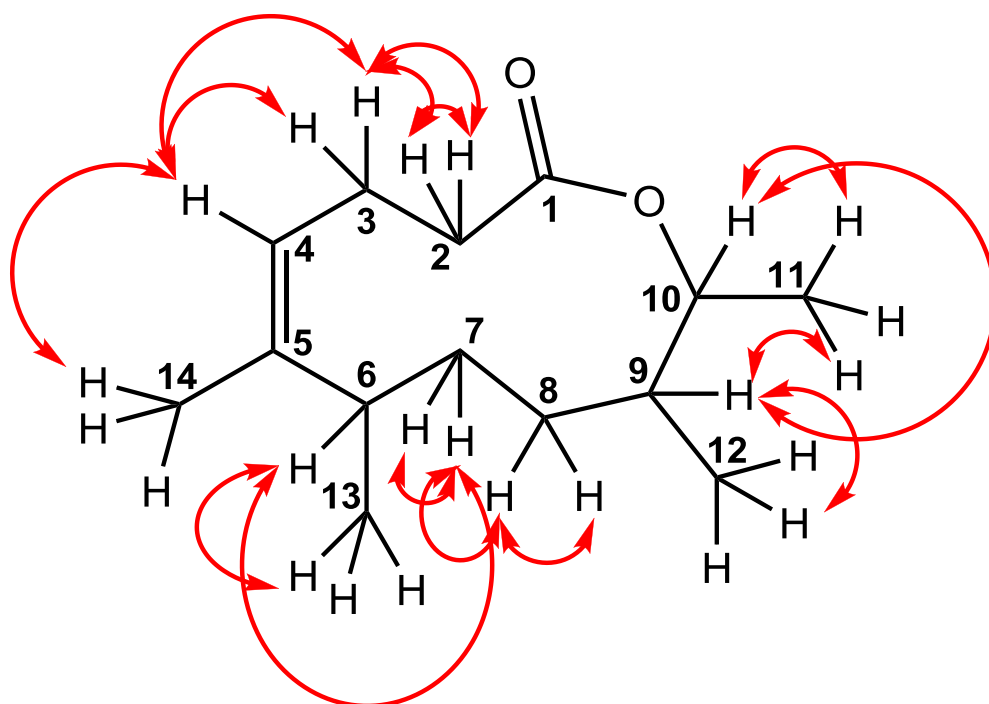


Abbildung 49: HH-COSY Kopplungen im Gephyromantolid B.

3.1.4.3 Gephyromantolid B

Um diesen Strukturvorschlag zu überprüfen, wurde eine geeignete Syntheseroute entwickelt (s. Abb. 50). In dieser Sequenz stellt die Herstellung des Hydroxyketons **80** die zentrale Herausforderung dar, da diese Verbindung schon alle benötigten Methylsubstituenten an den entsprechenden Positionen enthält.

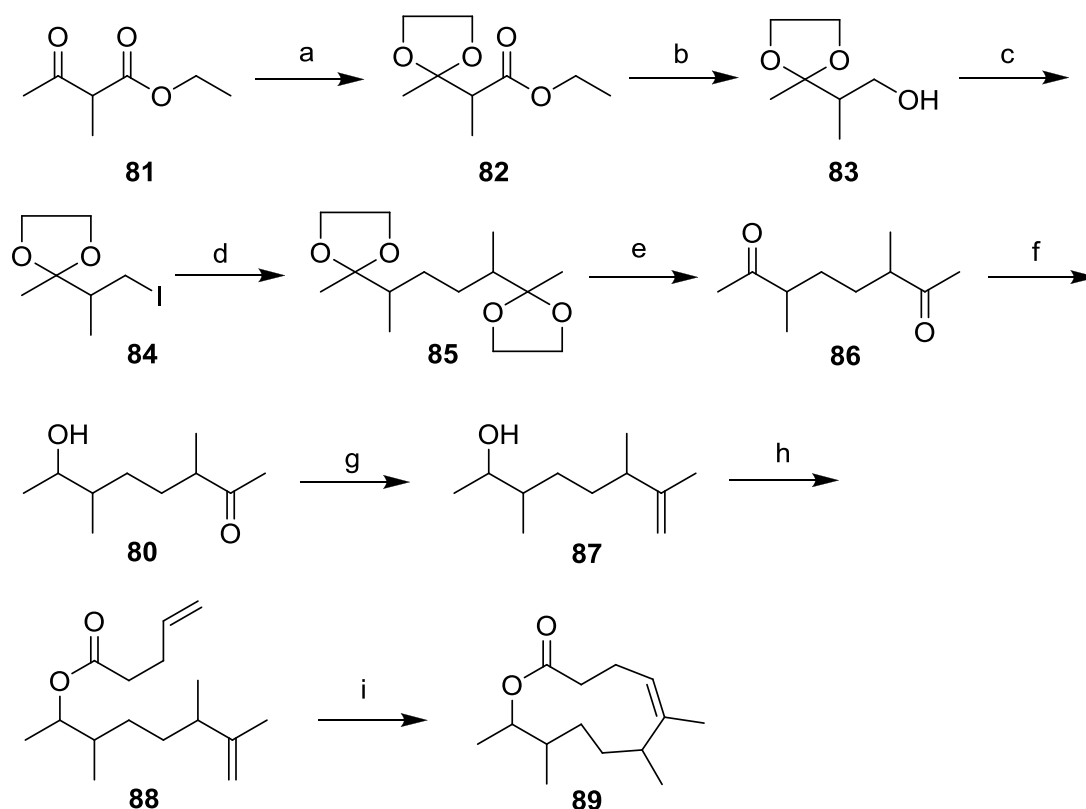


Abbildung 50: Synthese von (Z)-6,7,10,11-Tetramethyloxacycloundec-5-en-2-on (**89**) aus *Gephyromantis redimitus*. a) *p*TsOH, Ethylenglykol, Toluol, Rückfluss, 4 h, 91 %; b) LAH, Et₂O, RT, 12 h, 95 %; c) PPh₃, Imidazol, I₂, DCM, 0 °C, 12 h, 41 %; d) Li, THF, Ultraschall, RT, 2 h, 55 %; e) HCl, Aceton, RT, 1 h, 81 %; f) LAH, Et₂O, RT, 1 h, 16 %; g) Tebbe-Reagenz, THF, 12 h, 47 %; h) 4-Pentensäure, DMAP, EDC·HCl, DCM, 0 °C, 3 h, 56 %; i) Stewart-Grubbs-II, C₆F₆, Toluol, 80 °C, 5 h, 91 %.

Ausgehend vom kommerziell erhältlichen 2-Methyl-3-oxobuttersäureethylester (**81**) wurde zunächst durch Schutz der Ketogruppe als Dioxolan der Ester **82** erhalten. Dieser wurde im nächsten Schritt mit LAH zum entsprechenden Alkohol **83** reduziert. Dann wurde die Hydroxygruppe durch Substitution in das korrespondierende Iodid **84** überführt. Dieses

konnte daraufhin in einer Wurtz-Reaktion dimerisiert werden, so dass das symmetrische bis-Dioxolan **85** erhalten wurde. Das anschließende Entfernen der Dioxolanschutzgruppen führte zum Diketon **86**. Die nachfolgende selektive Reduktion von nur einer Hydroxyfunktion erwies sich als schwierig. So konnte selbst nach einigen Optimierungen bei der Reaktion nur eine geringe Ausbeute erzielt werden, da neben dem gewünschten Produkt **80** immer auch das Edukt und der Dialkohol auftraten. Als nächstes wurde die verbleibende Ketofunktion des Hydroxyketons **80** mit dem Tebbe-Reagenz olefiniert. Der ungesättigte Alkohol **87** wurde daraufhin mit 4-Pentensäure zum Ester **88** gekuppelt. Nun konnte abschließend das gewünschte Produkt (Z)-6,7,10,11-Tetramethyloxacycloundec-5-en-2-on (**89**) durch Ringschlussmetathese mit dem Stewart-Grubbs-II-Katalysator in Form von mindestens vier Isomeren synthetisiert werden.

Ein Vergleich der Massenspektren der synthetischen mit der natürlichen Verbindung ergab eine gute Übereinstimmung (s. Abb. 51). Die Unterschiede in den Ionenintensitäten sind wahrscheinlich darin begründet, dass der Naturstoff eine andere absolute Konfiguration aufweist als das synthetische **89**. Zudem können die Massenspektren der synthetischen Verbindungen überlagert sein, da keine Trennung aller Isomere erreicht werden konnte. Für diesen neuen Naturstoff schlage ich den Namen Gephyromantolid B vor.

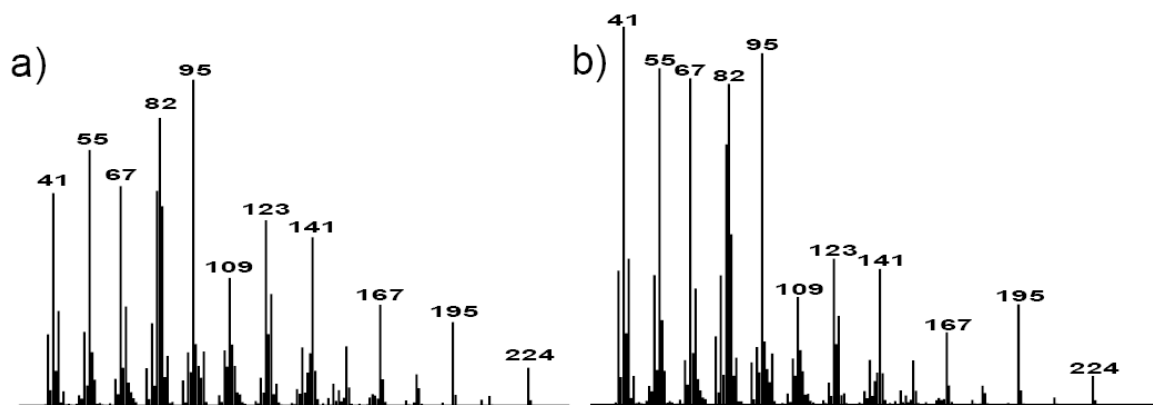


Abbildung 51: Massenspektren des Gephyromantolid B: a) synthetisches Gephyromantolid B; b) natürliches Gephyromantolid B.

Der nächste Schritt ist die Entwicklung einer stereoselektiven Syntheseroute, die es ermöglicht, alle Enantiomere von **89** herzustellen. Damit könnte in Zukunft auch die absolute Konfiguration des Naturstoffes aufgeklärt werden.

3.1.5 Vergleichende Analysen der Inhaltsstoffe der Femoraldrüsenextrakte der Mantellidae

3.1.5.1 Allgemeines

Während meiner Arbeit wurden insgesamt 136 Proben von 40 verschiedenen Arten der Familie Mantellidae analysiert. Die Proben wurden von meinem Kooperationspartner PROF. M. VENCES während verschiedener Madagaskaraufenthalte gesammelt. Die Artzugehörigkeit der Frösche wurde durch morphologische Untersuchungen bestimmt und anschließend durch genetische Analysen bestätigt. Nach der taxonomischen Bestimmung der Frösche wurde das Drüsengewebe entfernt, in Dichlormethan eingelegt und die Proben zur Analyse an unser Labor weitergeben. Die Extrakte wurden dann aufkonzentriert und direkt mittels GC/MS analysiert. Eine Übersicht der untersuchten Arten und das Auftreten von flüchtigen Naturstoffen ist in Tabelle 4 dargestellt. Eine individuelle Analyse findet sich auf der dieser Arbeit beiliegenden CD. Die Drüsenextrakte der gelbmarkierten Spezies enthalten flüchtige Naturstoffe, deren Struktur in dieser Arbeit aufgeklärt werden konnte. Die hellblau hinterlegten Arten enthalten bisher noch unbekannte Naturstoffe und in den weiß hinterlegten Arten konnten bisher keine flüchtigen Naturstoffe nachgewiesen werden. In der Spalte [Typ] ist der Femoraldrüsentyp der jeweiligen Art eingetragen. Als flüchtige Verbindungen wurden alle Verbindungen klassifiziert, die in den GC/MS Untersuchungen mit dem verwendeten Temperaturprogramm (50-5-5-320) mit einer Retentionszeit von unter 32 Minuten eluierten. Auch von den weniger flüchtigen Verbindungen, die im Bereich von 30 Minuten nachgewiesen werden konnten, gehen noch genügend Moleküle in die Gasphase über, um eine potentielle Wirkung als Signalmolekül zu erreichen.

Alle flüchtigen Verbindungen wurden anhand ihres Massenspektrums und durch den Vergleich mit einer Massenspektrendatenbank soweit wie möglich identifiziert. Außerdem wurde auch der Retentionsindex bestimmt und für literaturbekannte Strukturen die Massenspektren mit verschiedenen massenspektrometrischen Datenbanken verglichen^[71]. Die unbekannten Verbindungen wurden mit einem Datensatz bestehend aus Retentionsindex, Molekularion und Basision charakterisiert. In den untersuchten Drüsenextrakten wurde eine Gesamtzahl von 253 Verbindungen nachgewiesen. 150 dieser Verbindungen konnten zu den flüchtigen Verbindungen gezählt werden, wobei die genaue Struktur von ungefähr der Hälfte dieser Verbindungen noch unbekannt ist.

Tabelle 4: Vorkommen von flüchtigen Naturstoffen in verschiedenen Arten der Mantellidae

Art	Probenanzahl	identifizierte Verbindungen	unbekannte Verb.	keine	Typ
<i>Mantidactylus multiplicatus</i>	22	x			3
<i>Mantidactylus femoralis</i>	17	x	x		3
<i>Mantidactylus melanopleura</i>	5	x	x		3
<i>Mantidactylus albofrenatus</i>	2	x			3
<i>Mantidactylus biporus</i>	2	x			3
<i>Mantidactylus charlotteae</i>	1	x			3
<i>Mantidactylus ulcerosus</i>	4		x		3
<i>Mantidactylus guttulatus</i>	1		x		4
<i>Mantidactylus alutus</i>	1		x		3
<i>Mantidactylus opiparis</i>	1		x		3
<i>Mantidactylus majori</i>	1			x	3
<i>Mantidactylus zipperi</i>	1			x	3
<i>Gephyromantis boulengeri</i>	6	x	x		2
<i>Gephyromantis decaryi</i>	4	x	x		2
<i>Gephyromantis redimitus</i>	2	x	x		2
<i>Gephyromantis sculpturatus</i>	3		x		2
<i>Gephyromantis eiselti</i>	2		x		2
<i>Gephyromantis leucocephalus</i>	2		x		2
<i>Gephyromantis asper</i>	1		x		2
<i>Gephyromantis plicifer</i>	1		x		2
<i>Gephyromantis moseri</i>	1		x		2
<i>Gephyromantis ambohitra</i>	1		x		2
<i>Gephyromantis thelenae</i>	2			x	2
<i>Guibemantis liber</i>	17		x		1
<i>Guibemantis bicalcaratus</i>	1		x		2
<i>Guibemantis depressiceps</i>	1			x	1
<i>Spinomantis aglavei</i>	7		x		2
<i>Blommersia wittei</i>	1			x	2
<i>Blommersia blommersae</i>	1			x	2
<i>Mantella bernhardi</i>	3			x	1
<i>Mantella crocea</i>	1			x	1
<i>Mantella nigricans</i>	1			x	1
<i>Boophis goudoti</i>	3			x	0
<i>Boophis madagascariensis</i>	1			x	0
<i>Boophis brachyichir</i>	1			x	0
<i>Platypelis grandis</i>	1			x	0
<i>Aglyptodactylus madagascariensis</i>	1			x	0
<i>Plethodontohyla inguinalis</i>	1			x	0
<i>Heterixalus alboguttatus</i>	9		x		gular
<i>Heterixalus betsileo</i>	3		x		gular

3.1.5.2 Vorkommen von flüchtigen Verbindungen

Insgesamt konnten in 25 der 40 untersuchten Arten flüchtige Verbindungen gefunden werden, welche als Pheromone wirken könnten. Dass in einigen Arten keine flüchtigen Verbindungen nachgewiesen werden konnten, ist vor allem darauf zurückzuführen, dass diese keine Femoraldrüsen besitzen. Für die Proben dieser Arten wurden jeweils Hautproben von der Unterseite der Hinterschenkel entnommen, um zu untersuchen, ob Verbindungen über die Haut abgegeben werden können oder nur in den Drüsen gespeichert sind.

Arten ohne Femoraldrüsen sind *Plethodontohyla inguinalis* und *Platypelis grandis*, die zu einer anderen Familie der Mantellidae, den Microhylidae, gehören. Auch die drei untersuchten *Boophis* Arten aus der Unterfamilie der Boophinae und der zur Unterfamilie der Laliostominae gehörende *Aglyptodactylus madagascariensis* haben keine Femoraldrüsen. Das Fehlen von potentiellen Pheromonen ist daher nicht überraschend. Erstaunlicherweise konnten aber auch in den Drüsenextrakten der untersuchten Individuen von *Mantella* und *Blommersia* keine flüchtigen Verbindungen nachgewiesen werden. Auch in zwei Arten der Gattung *Mantidactylus* und den Arten *Gephyromantis thelenae* und *Guibemantis depressiceps* waren keine flüchtigen Verbindungen enthalten. Dies ist ungewöhnlich, da alle diese Arten deutlich erkennbare Femoraldrüsen haben, die besonders bei *Mantidactylus* gut ausgebildet sind. Ein Fehlen von potentiellen Pheromonen kann darauf zurückgeführt werden, dass die Anzahl der untersuchten Proben pro Art sehr gering ist. Hier haben Fehler bei der Etikettierung, die falsche Klassifizierung des Geschlechts oder eine schlechte Probenverarbeitung die größten Auswirkungen. Ebenso kann die Produktion der Verbindungen abhängig vom physiologischen Zustand des Frosches sein. Um klare Aussagen über diese Arten machen zu können, muss der Datensatz in Zukunft durch die Untersuchung weiterer Proben erweitert werden. Es wurden außerdem Untersuchungen an in Gefangenschaft aufgezogenen Individuen von *Mantidactylus multiplicatus* durchgeführt. Die Femoraldrüsenextrakte dieser Tiere enthielten die Verbindungen Phoracantholid J (**15**) und 8-Methylnonan-2-ol (**9**), die auch in den in Madagaskar gefangen Fröschen auftraten. Da die Frösche während ihrer Aufzucht im Labor ausschließlich mit Springschwänzen und Heimchen gefüttert wurden, in welchen diese Verbindungen wahrscheinlich nicht vorkommen^[72], kann davon ausgegangen werden, dass die beiden Verbindungen von den Fröschen produziert werden. Offenbar ändert sich die Zusammensetzung des Femoraldrüsensekrets von *Mantidactylus multiplicatus* auch in Gefangenschaft nicht.

3.1.5.3 Unbekannte Verbindungen

In vielen Arten mit Femoraldrüsen konnten eine große Anzahl von bisher unbekannten Naturstoffen nachgewiesen werden. Bei diesen flüchtigen Verbindungen handelt es sich meist um Makrolide, deren genaue Struktur noch nicht aufgeklärt werden konnte. Im Folgenden sind einige Gaschromatogramme von Femoraldrüsenextrakten verschiedener Arten und die Massenspektren der Hauptkomponenten dargestellt, um die große Vielfalt an flüchtigen Verbindungen, die in den Drüsen gespeichert werden, zu veranschaulichen. In Abbildung 52 ist das Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Gephyromantis plicifer* dargestellt.

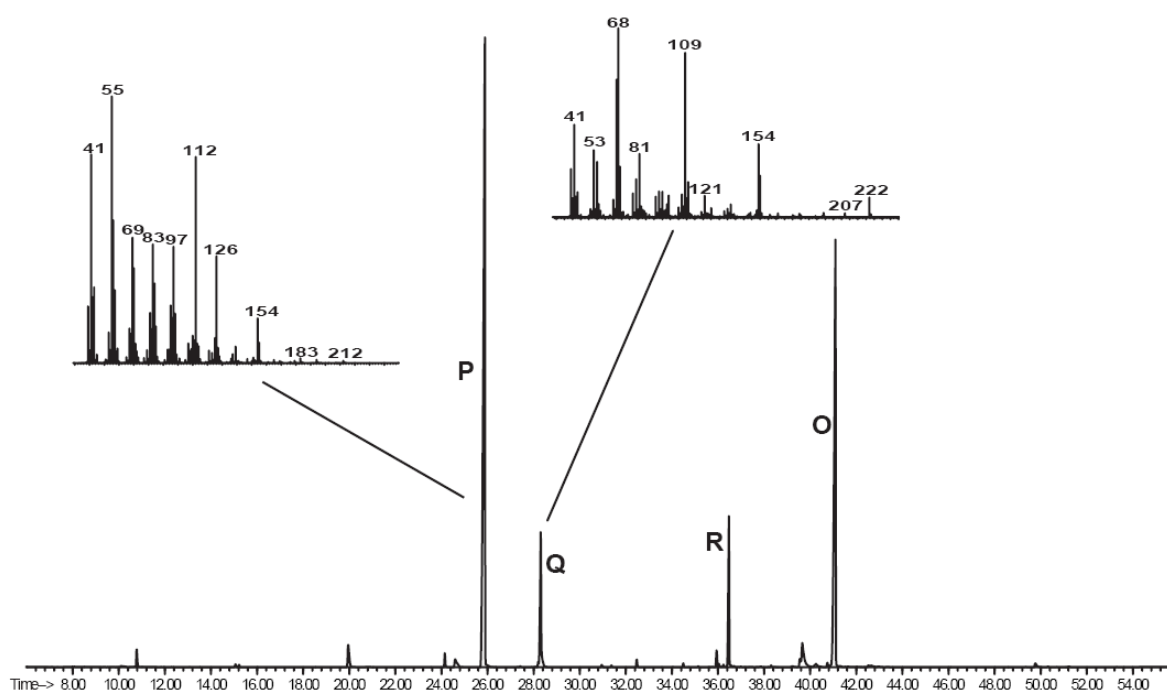


Abbildung 52: Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Gephyromantis plicifer*: **P**) unbekanntes Makrolid, **Q**) unbekannter Naturstoff, **R**) Hexadecansäureethylester, **O**) Arachidonsäure.

Neben den beiden flüchtigen Verbindungen **P** und **Q** treten auch Hexadecansäureethylester (**R**) und Arachidonsäure (**O**) in hoher Konzentration auf. Das Massenspektrum von Verbindung **P** ähnelt dem der anderen identifizierten makroliden Naturstoffe. Der Naturstoff **Q** konnte bislang noch keiner Stoffklasse zugeordnet werden. Für eine Aufklärung der beiden

Strukturen ist eine NMR-Analyse erforderlich, die aber bisher aufgrund der geringen Probenkonzentration und der Probenzusammensetzung nicht durchgeführt werden konnte. Ein weitere interessante Zusammensetzung von flüchtigen Verbindungen wurde in dem Femoraldrüsenextrakt von *Gephyromantis asper* gefunden (s. Abb. 53).

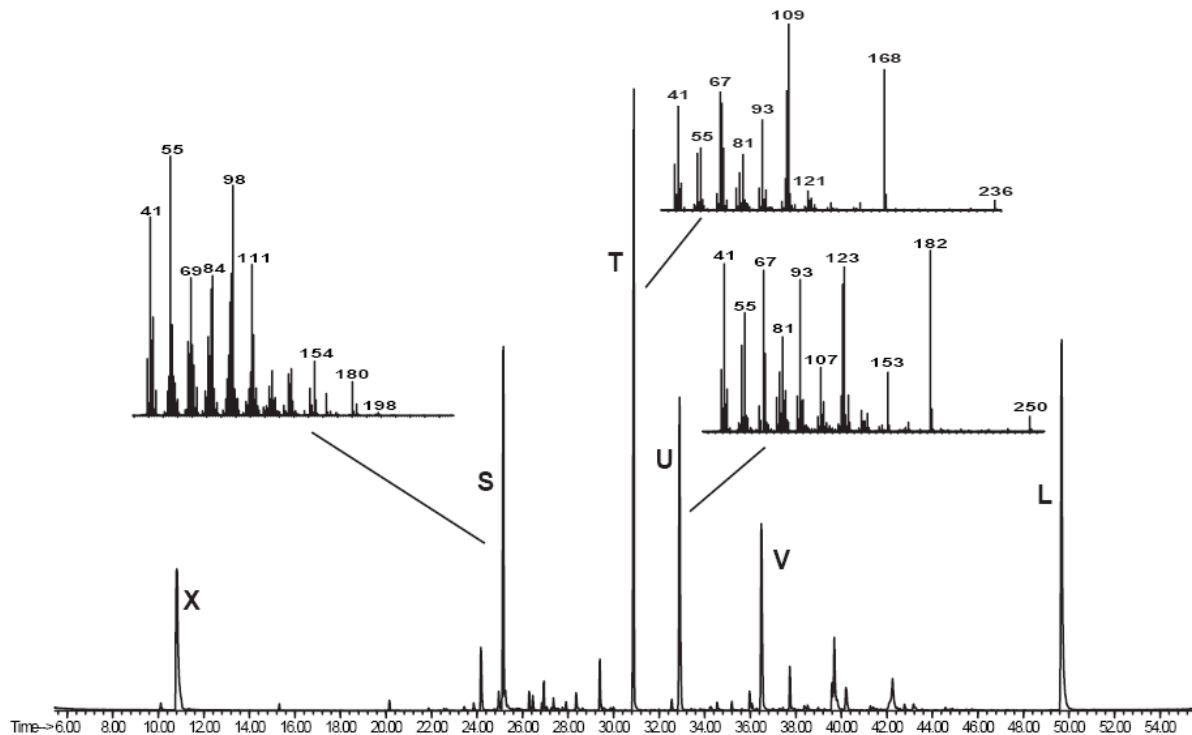


Abbildung 53: Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Gephyromantis asper*: S) unbekanntes Makrolid, T)+U) unbekannte Naturstoffe, V) Hexadecansäure, L) Squalen, X) Artefakt.

Hier konnte ein weiteres unbekanntes Makrolid (S) mit der Masse $m/z = 198$ nachgewiesen werden. Außerdem traten noch die beiden flüchtigen Naturstoffe T und U in hohen Konzentrationen auf. Diese beiden haben ein sehr ähnliches Fragmentierungsmuster, wobei Verbindung U ein Kohlenstoffatom mehr besitzt als T und somit die wichtigsten Fragmentationen eine um 14 Einheiten größere Masse aufweisen.

Auch der Femoraldrüsenextrakt von *Spinomantis aglavei* (s. Abb. 54) enthält eine große Anzahl verschiedener flüchtiger Verbindungen.

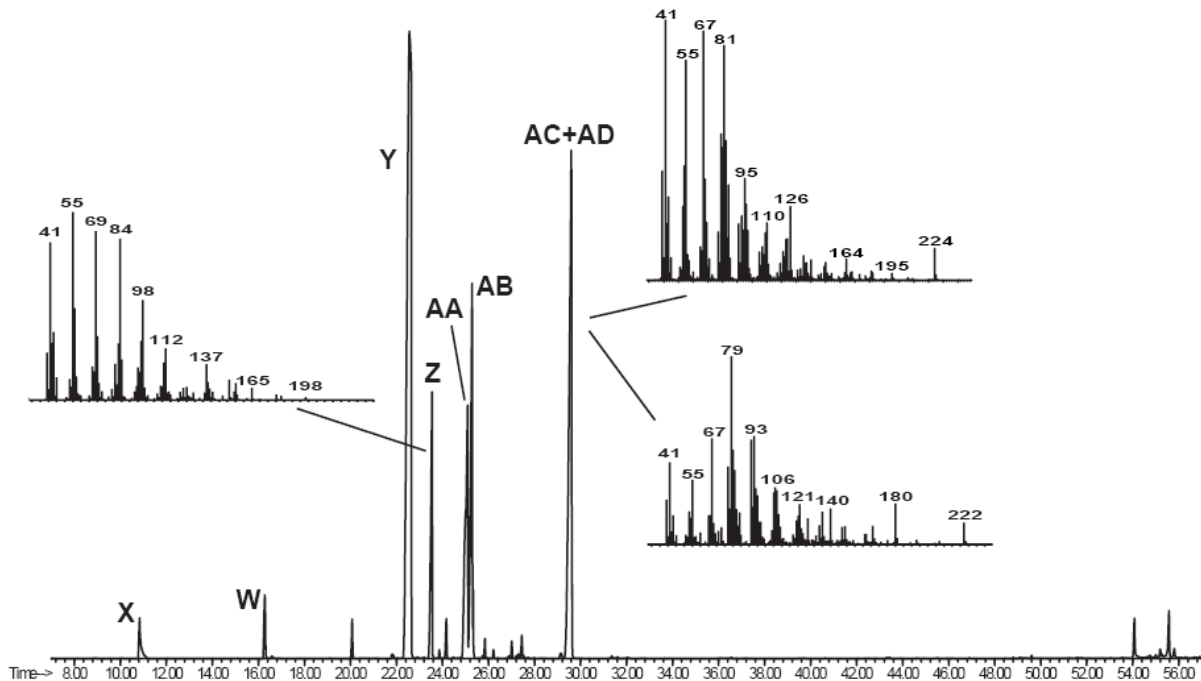


Abbildung 54: Gaschromatogramm des Femoraldrüsenextraktes von *Spinomantis aglavei*: W) 7-Methylnonan-2-on Y) unbekanntes Propionat, Z)-AD) unbekannte Makrolide, X) Artefakt.

Bei den drei im Chromatogramm mit ihrem Massenspektrum gezeigten Verbindungen (Z, AC und AD) handelt es sich um weitere neue Naturstoffe mit makrolider Struktur. Die Massenspektren der anderen markierten Peaks sind in Abbildung 55 dargestellt.

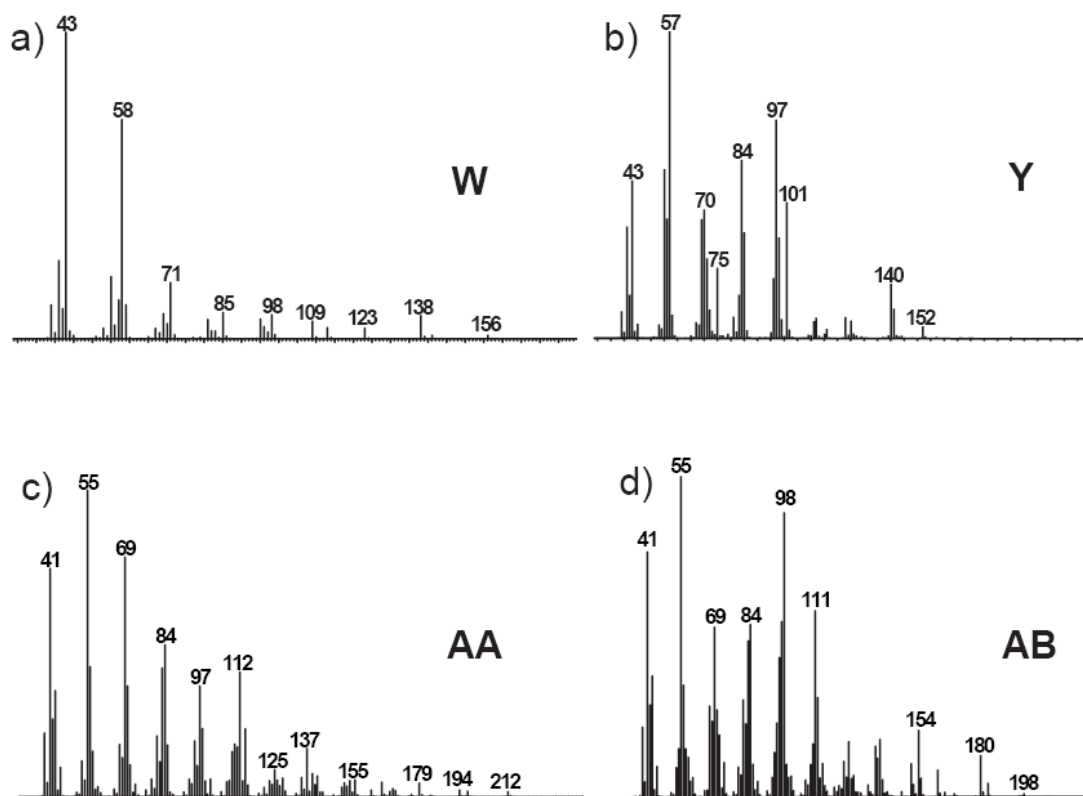


Abbildung 55: Massenspektren der flüchtigen Verbindungen aus dem Femoraldrüsenextrakt von *Spinomantis aglavei* : a) 7-Methylnonan-2-on (**W**), b)-d) unbekannte Verbindungen (**Y**, **AA**, **AB**).

Für Verbindung **W** konnte anhand des Massenspektrums die Struktur 7-Methylnonan-2-on vorgeschlagen werden. Der Strukturvorschlag muss in Zukunft durch eine Synthese bestätigt werden. Von Verbindung **Y**, welche die Hauptverbindung des Drüsenextraktes darstellt, konnte wegen des Fehlens des Molekularionenfragmentes die Molekülmasse noch nicht bestimmt werden. Das Fragmentierungsmuster gibt aber Hinweise darauf, dass es sich bei der Verbindung um ein Propionat handeln könnte. Verbindung **AA** mit der Molekülmasse 212 scheint wiederum ein Makrolid zu sein. Verbindung **AB** besitzt genau wie **A** und **Z** die Molekülmasse 198. Da sich aber bei allen drei Verbindungen die Fragmentierungsmuster und auch der Retentionsindex unterscheiden, muss es sich bei ihnen um Strukturisomere handeln.

3.1.5.4 *Heterixalus*

Die beiden Arten *Heterixalus alboguttatus* und *Heterixalus betsileo* sind gesondert zu betrachten. Sie gehören zur Familie der Hyperoliidae und besitzen keine Femoraldrüsen. Sie verfügen aber über deutlich erkennbare Drüsen auf ihrer Schallblase. Es wurde vermutet, dass diese so genannten *gular glands* auch flüchtige Verbindungen speichern und bei Bedarf freisetzen können. Deshalb wurden diese Drüsen entfernt und wie bei den anderen Proben extrahiert und untersucht. Die Analyse zeigte vorhandene flüchtige Verbindungen an, die prinzipiell für die chemische Kommunikation genutzt werden könnten (s. Abb. 56).

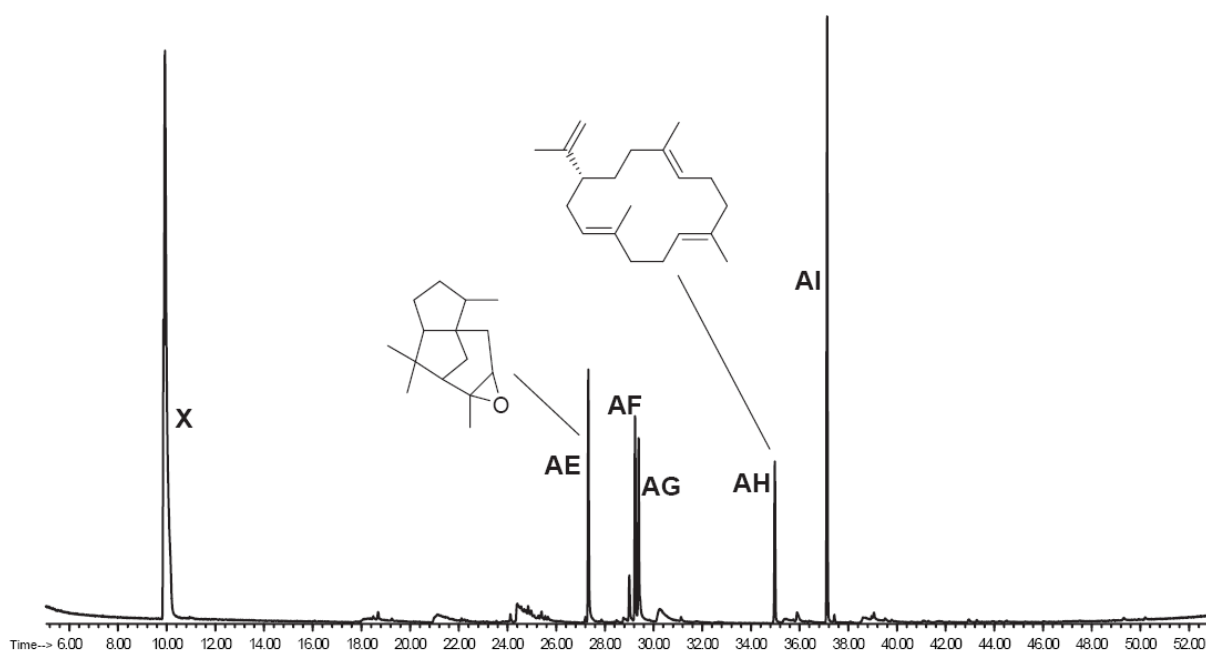


Abbildung 56: Gaschromatogramm des Schalldrüsenextraktes von *Heterixalus betsileo*: Die in hoher Konzentration auftretenden Terpene **AE-AH** werden von einigen Fettsäureestern in geringer Konzentration begleitet. **X**) Artefakt, **AI**) Androstan.

Aufgrund der Massenspektren konnten einige der Verbindungen als Sesquiterpene und Diterpene charakterisiert werden. Die Strukturen einiger Terpene konnten durch den Vergleich mit Massenspektrendatenbanken teilweise aufgeklärt werden. Die Massenspektren der Hauptkomponenten sind in Abbildung 57 dargestellt.

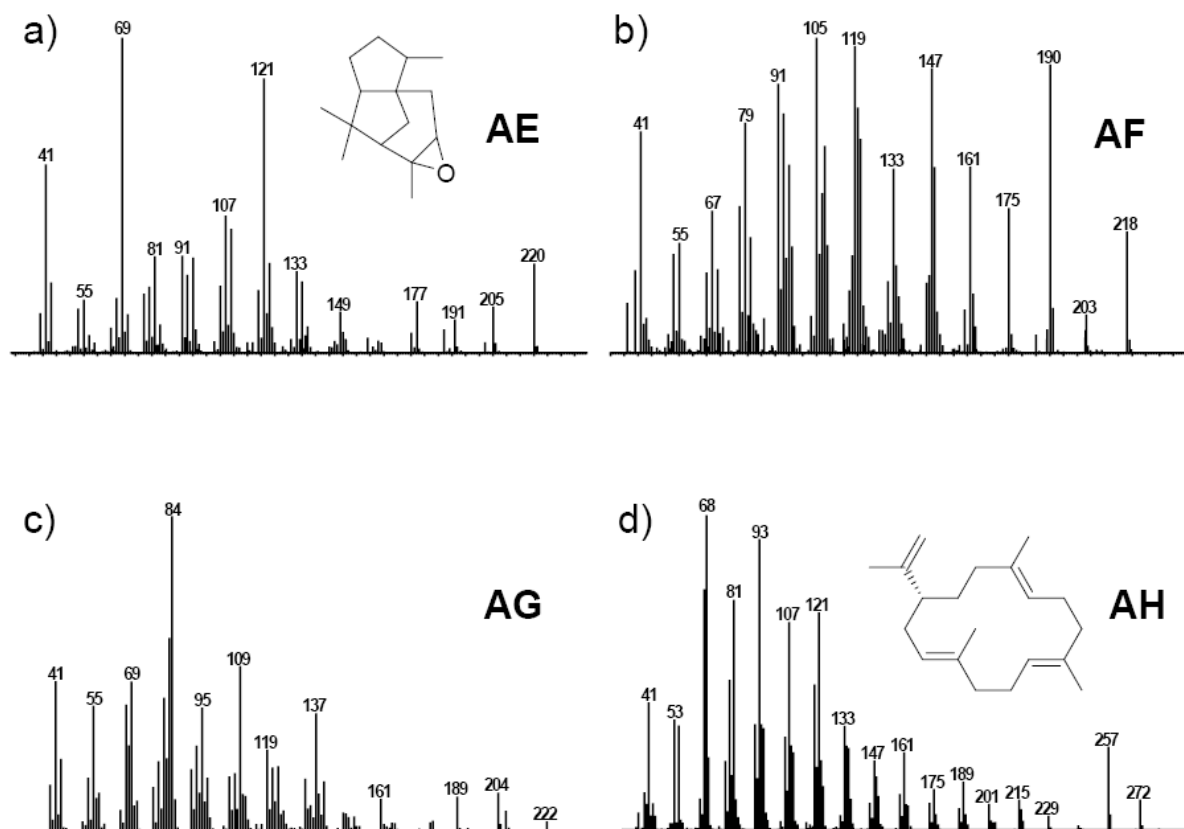


Abbildung 57: Massenspektren der Terpene aus den Extrakten der Schallblasendrüse von *Heterixalus betsileo*: **AE**) Diepi- α -cedrenepoxid, **AH**) Cembrene A, **AF**)+**AG**) unbekannte Terpene.

Die beiden Terpene Diepi- α -cedrenepoxid (**AE**) und Cembren A (**AH**) konnten anhand ihres Massenspektrums und ihres Retentionsindices identifiziert werden. Das Massenspektrum der Verbindung (**AF**) wies eine große Ähnlichkeit zu dem aus einigen Citrusarten bekannten Sesquiterpen Nootkatone auf. Da aber der Retentionsindex eine zu große Abweichung aufwies, kann es sich bei dem Naturstoff nicht darum handeln, sondern um eine verwandte Struktur. Für Verbindung (**AG**) wurde anhand des Massenspektrums ein Hydroxygermacradien als Struktur vorgeschlagen. Da auch hier zu große Abweichungen zwischen den Retentionsindices des Naturstoffes und des β -Hydroxygermacradiens bestanden, muss es sich auch bei dieser Verbindung um ein Isomer handeln. Dass die Frösche der Gattung *Heterixalus* diese Verbindungen durch ihre Nahrung aufnehmen, ist wahrscheinlich, jedoch muss in Zukunft die Funktion der Schallblasendrüsen und die genaue Wirkung dieser flüchtigen Verbindungen noch aufgeklärt werden.

3.1.5.5 Konzentrationsunterschiede

Neben den hier beispielhaft diskutierten Hauptkomponenten der Drüsenextrakte wurde auch eine Vielzahl von Verbindungen in geringer Konzentration nachgewiesen. Alle diese Verbindungen wurden anhand ihres Retentionsindices und des Massenspektrums charakterisiert und in die interne Datenbank aufgenommen.

Die Aufklärung der meisten dieser Strukturen gestaltet sich jedoch als sehr schwierig. Das liegt hauptsächlich an den geringen Konzentrationen der flüchtigen Verbindungen. Die Hauptkomponenten der Drüsenextrakte sind in Mengen von weniger als 500 µg in den Extrakten enthalten. Dies macht eine chromatographische Aufreinigung der Substanzen sehr schwierig, auch da die in den Extrakten enthaltenen Makrolide und Fettsäureester eine ähnliche Polarität aufweisen. Selbst nach gelungener Isolierung der Verbindungen reicht die erhaltene Menge der Substanz meistens nicht aus, um mit den erhaltenen NMR-Daten die Struktur zu lösen. Für diese Herangehensweise wäre eine Beschaffung von weiteren Proben der entsprechenden Arten nötig. Diese können dann nach einer Analyse ihrer Bestandteile vereinigt werden und die Verbindungen angereichert werden. Dadurch wird nicht nur die chromatographische Isolierung einfacher, sondern auch die anschließende Aufklärung der Struktur durch NMR-Methoden wahrscheinlicher.

Eine andere Möglichkeit die Strukturen von Verbindungen aufzuklären, von denen nur massenspektrometrische Daten vorliegen, ist es, anhand dieser Daten verschiedene Strukturvorschläge zu erarbeiten und diese dann durch möglichst kurze Synthesen zu überprüfen. Dass diese Methode Erfolg haben kann, wurde in Kapitel 3.1.3.3 für Mantidactolid A (**42**) gezeigt.

3.2 Alkaloide

3.2.1 Allgemeines

Die auf Kuba beheimatete Art *Eleutherodactylus iberia* galt lange als kleinster Frosch der Welt. Die Individuen erreichen eine maximale Größe von nur 11 mm. Erst kürzlich wurde von RITTMAYER et al.^[73] auf der Insel Neu Guinea der Frosch *Paedophryne amauensis* entdeckt, der mit einer Körperlänge von nur 8 mm noch kleiner ist.

Eleutherodactylus iberia hat trotz seiner geringen Größe eine auffallende Färbung. Die in Abb. 58 gut erkennbaren gelben Streifen stellen möglicherweise eine Form von Aposematismus dar. Diese Färbung soll wahrscheinlich Fressfeinde abschrecken und weist auf das mögliche Vorkommen von Alkaloiden oder anderen toxischen Verbindungen in der Haut hin^[74].



Abbildung 58: *Eleutherodactylus iberia*. Foto: A. Rodríguez

3.2.2 *Eleutherodactylus iberia*

Um zu untersuchen, ob auch Frösche der Familie Eleutherodactylidae Alkaloide in ihrer Haut speichern, wurde die Haut von zwei Individuen von *Eleutherodactylus iberia* entfernt und mit Methanol extrahiert. Die Extrakte wurden anschließend konzentriert und mittels GC/MS analysiert. Ein Ausschnitt des entsprechenden Chromatogramms ist in Abb. 59 dargestellt.

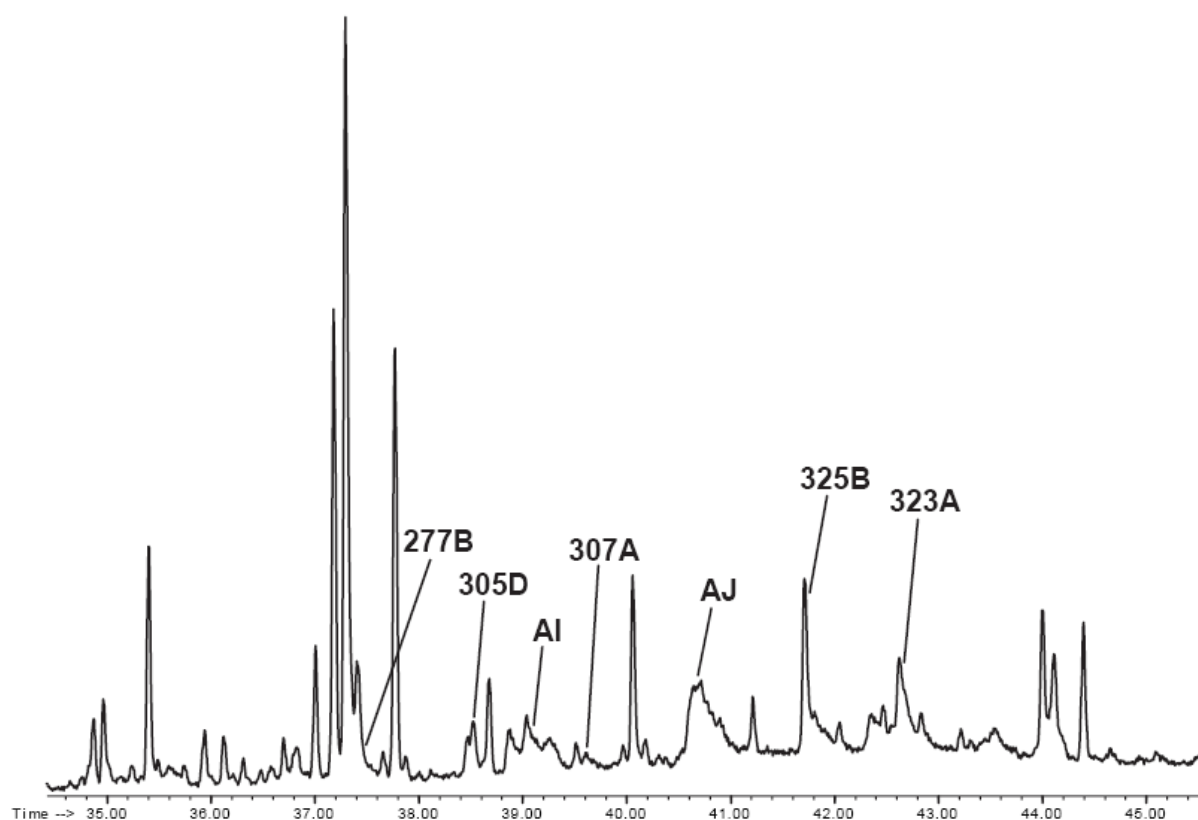


Abbildung 59: Ausschnitt des Gaschromatogramms des Hautextraktes von *Eleutherodactylus iberia*. Die Ziffern geben die Alkaloide nach DALY et al.^[75] an, **AI** und **AJ** sind zwei unbekannte Alkaloide.

In diesem Extrakt konnten insgesamt sieben Alkaloide nachgewiesen werden. Dabei handelt es sich um die fünf in Abbildung 60 dargestellten Pumiliotoxine und zwei unbekannte Verbindungen, die wahrscheinlich eine Indolizidinstruktur besitzen (s. Abb. 62).

Die in relativ geringer Konzentration auftretenden Pumiliotoxine konnten anhand ihres Massenspektrums mit experimentellen Daten von DALY et al.^[75] verglichen werden.

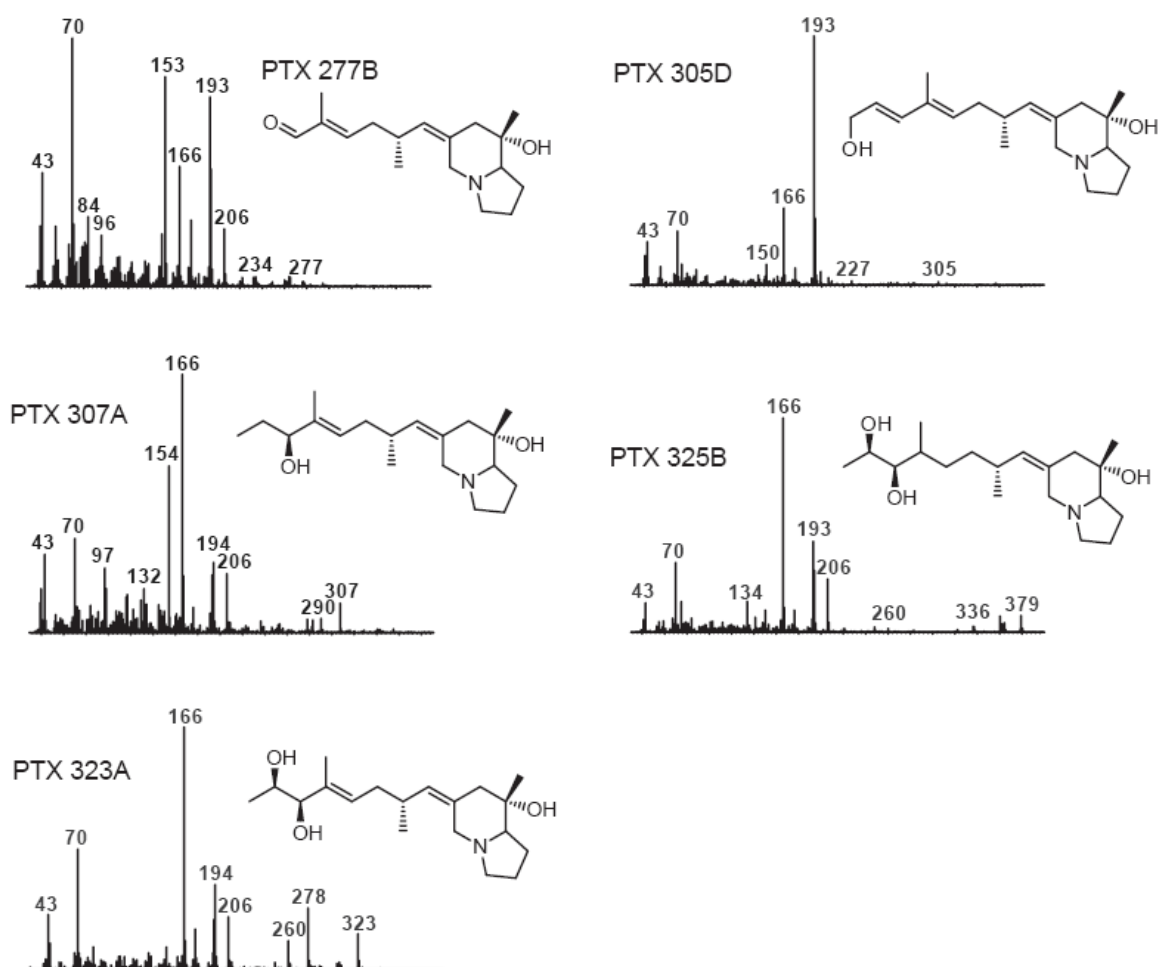


Abbildung 60: Massenspektren der identifizierten Pumiliotoxine aus *Eleutherodactylus iberia*. Für PTX 325B ist das Massenspektrum des entsprechenden Silylderivats dargestellt.

Die Pumiliotoxine besitzen eine gemeinsame Grundstruktur, die aus einem Oktahydroindolizin besteht, welches an der 3-Position durch eine Methylgruppe und eine Hydroxyfunktion substituiert ist. Der an der 5-Position vorhandene Substituent unterscheidet sich bei den verschiedenen Pumiliotoxinen. Das Hauptfragment im Massenspektrum der Pumiliotoxine ist meistens das Ion $m/z = 166$, das durch eine Spaltung des Moleküls neben der dem Ring angeschlossenen Doppelbindung entsteht.

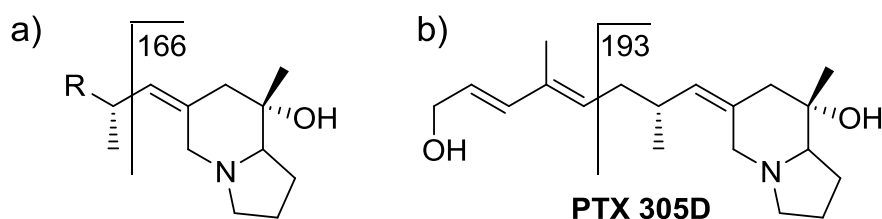


Abbildung 61: Fragmentierung der Pumiliotoxine: a) Pumiliotoxin Grundstruktur; b) Pumiliotoxin 305D

Das Pumiliotoxin 277B ist bekannt aus den Familien der Dendrobatiden, Mantellidae und Myobatrachiden, das Pumiliotoxin 305D aus den Mantellidae. Das bei diesen Verbindungen auftretende prominente Ion bei $m/z = 193$ ist auf die favorisierte Spaltung des Moleküls neben der Doppelbindung der Seitenkette zurückzuführen (s. Abb. 61).

Das Massenspektrum, welches dem Pumiliotoxin 325B zugeordnet wurde, ist das des entsprechenden Dimethylsiloxanderivates, das während der Messung des Diols auf der Polymethylsiloxalphase des GC/MS-Gerätes entstanden ist. Dieses Phänomen ist schon von anderen Diolen bekannt^[46].

Die Strukturen der beiden Indolizidine konnte aufgrund der niedrigen Konzentration im Extrakt und des daraus resultierenden schlechten Massenspektrums nicht identifiziert werden.

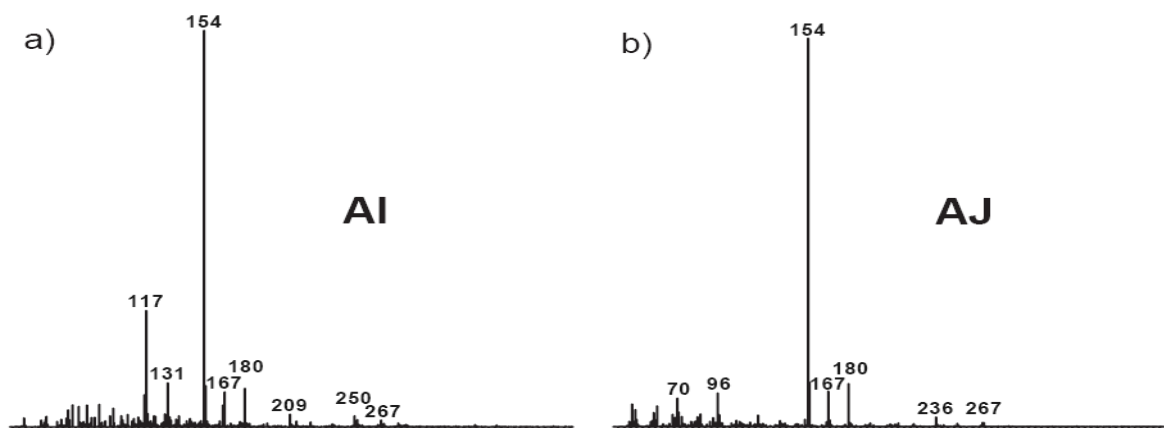


Abbildung 62: Massenspektren der unbekannten Indolizidine aus *Eleutherodactylus iberia*: a) AI; b) AJ.

Durch die Identifizierung der Pumiliotoxine konnte gezeigt werden, dass auch der Miniaturfrosch *Eleutherodactylus iberia* Alkaloide in seiner Haut speichert. Damit sind die Eleutherodactylidae erst die fünfte Froschfamilie überhaupt, deren Vertreter Alkaloide in ihrer Haut enthalten.

Die Hauptnahrungsquellen der Tiere sind Athropoden, wie zum Beispiel Ameisen und Milben. In vielen dieser als Nahrung dienenden Organismen konnten Alkaloide nachgewiesen werden^[37,76]. Man geht davon aus, dass die Frösche die Alkaloide mit der Nahrung aufnehmen und dann in den Drüsen der Haut speichern. Aus diesem Grund wurde die Zusammensetzung des Mageninhalts der untersuchten Tiere von meinem Kooperationspartner A. RODRÍGUEZ analysiert^[77]. Der Mageninhalt bestand hauptsächlich aus Milben (73 %), Collembolen (10 %) und Ameisen (7 %). Der große Anteil der Milben in der Nahrung, hauptsächlich von der Unterordnung der Hornmilben, welche dafür bekannt sind verschiedene Alkaloide zu produzieren, bestätigt diese Theorie.

3.2.3 Eleutherodactylidae

Durch diese überraschenden Ergebnisse motiviert, wurden weitere mit *Eleutherodactylus iberia* verwandte Arten auf das Vorkommen von Alkaloiden untersucht. Dabei wurden nicht nur Hautextrakte von Arten aus der *Eleutherodactylus (Euhyas) limbatus* Speziesgruppe mit den Vertretern *Eleutherodactylus cubanus*, *etheridgei*, *jaumei*, *limbatus* und *orientalis* sondern auch von anderen weniger eng verwandten *Eleutherodactylus* Arten^[78] analysiert. Von den verschiedenen Individuen wurden jeweils Hautproben entnommen und mit Methanol extrahiert. Die Extrakte wurden dann mittels GC/MS analysiert. In Tabelle 5 ist die Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt.

Tabelle 5: Alkaloidverteilung in den untersuchten Hautextrakten der verschiedenen *Eleutherodactylus* Arten

Art	identifizierte Alkaloide	nicht identifizierte Alkaloide
<i>Eleutherodactylus iberia</i>	x	x
<i>Eleutherodactylus orientalis</i>	x	x
<i>Eleutherodactylus jaumei</i>	x	x
<i>Eleutherodactylus limbatus</i>	x	x
<i>Eleutherodactylus cubanus</i>	x	x
<i>Eleutherodactylus etheridgei</i>		x
<i>Eleutherodactylus goini</i>		x
<i>Eleutherodactylus ricordii</i>		x
<i>Eleutherodactylus tetajulia</i>		x
<i>Eleutherodactylus casparii</i>		x
<i>Eleutherodactylus klinikowski</i>		
<i>Eleutherodactylus guanahacabibes</i>		
<i>Eleutherodactylus varleyi</i>		
<i>Eleutherodactylus riparius</i>		

Alle Arten, in denen Alkaloide gefunden und identifiziert werden konnten, sind durch ein Kreuz in der ersten Spalte markiert. Es stellte sich heraus, dass alle mit dem *Eleutherodactylus iberia* eng verwandten Arten Alkaloide in der Haut speichern. Auch andere Arten wie *Eleutherodactylus goini* und *ricordii* besitzen offenbar Alkaloide, welche jedoch nicht zu den bereits bekannten Verbindungen gehören. Insgesamt konnte in über 70 % der untersuchten Arten Alkaloide nachgewiesen und teilweise auch die Struktur bestimmt werden. Bei den identifizierten Alkaloiden handelt es sich zum großen Teil um Pumiliotoxine oder Indolizidine. Einige dieser Verbindungen sind in Abbildung 63 dargestellt. Sie konnten durch Analyse der Massenspektren und durch den Vergleich mit der von DALY et al.^[75] erstellten Alkaloid-Datenbank identifiziert werden.

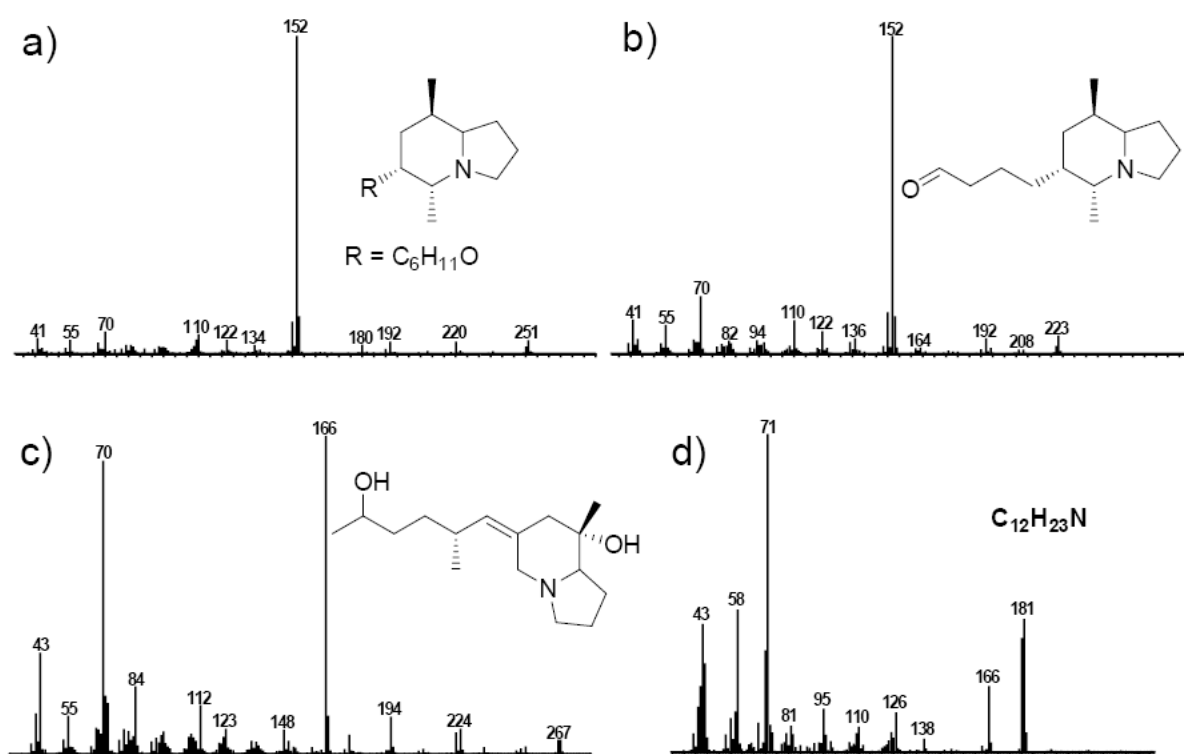


Abbildung 63: Identifizierte Alkaloide aus verschiedenen *Eleutherodactylus* Arten: a) Idolizidin 251S, b) Idolizidin 223C, c) Pumiliotoxin 267C, d) Alkaloid 181C.

Die zweite Spalte kennzeichnet alle Arten, in denen Alkaloide nachgewiesen wurden, deren Struktur aber bislang nicht aufgeklärt werden konnte. Einige dieser Verbindungen wurden mittels hochauflösender Massenspektrometrie untersucht und es konnten die Summenformeln der Verbindungen und ihrer Fragmente bestimmt werden (s. Abb. 64).

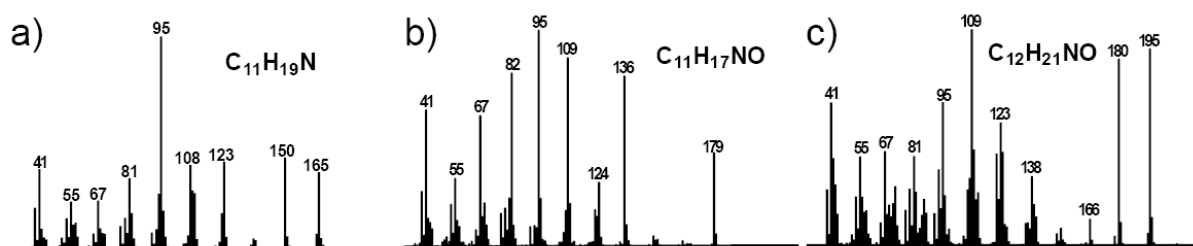


Abbildung 64: Massenspektren von unbekannten Alkaloiden aus *Eleutherodactylus iberia* mit den folgenden Molekülmassen: a) Masse = 165.1518 u, berechnet: 165.1518 u; b) Masse = 179.1314 u, berechnet: 179.1310 u; c) Masse = 195.1630 u, berechnet: 195.1623 u

Hierbei handelt es sich sowohl um weitere noch nicht beschriebene Pumiliotoxine, als auch um andere stickstoffhaltige Ringsysteme. In Zukunft könnte eine Synthese ausgewählter Strukturen oder Modellverbindungen Hinweise auf die exakte Struktur dieser unbekannten Verbindungen geben.

Eine weitergehende Analyse im Hinblick auf die Frage, ob das Vorkommen von Alkaloiden mit der unterschiedlichen Futterwahl oder mit dem Verwandtschaftsgrad der Arten untereinander in Zusammenhang steht, wird in Zukunft durchgeführt werden.

4 ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt konnten eine große Anzahl an flüchtigen Verbindungen in den Drüsenextrakten der Mantellinae nachgewiesen werden. Von diesen etwa 150 Verbindungen konnte von ungefähr der Hälfte die Struktur bestimmt werden. In einer Vielzahl von Arten traten neben methylverzweigten Alkoholen hauptsächlich verschiedene Makrolide auf. Diese unterschieden sich sowohl durch die verschiedenen Ringgrößen, als auch durch die Anzahl der Unsättigungen und Methylverzweigungen. Eine Übersicht über die im Rahmen dieser Arbeit identifizierten Verbindungen, welche jeweils durch Totalsynthesen bestätigt wurden, ist in Abbildung 65 dargestellt.

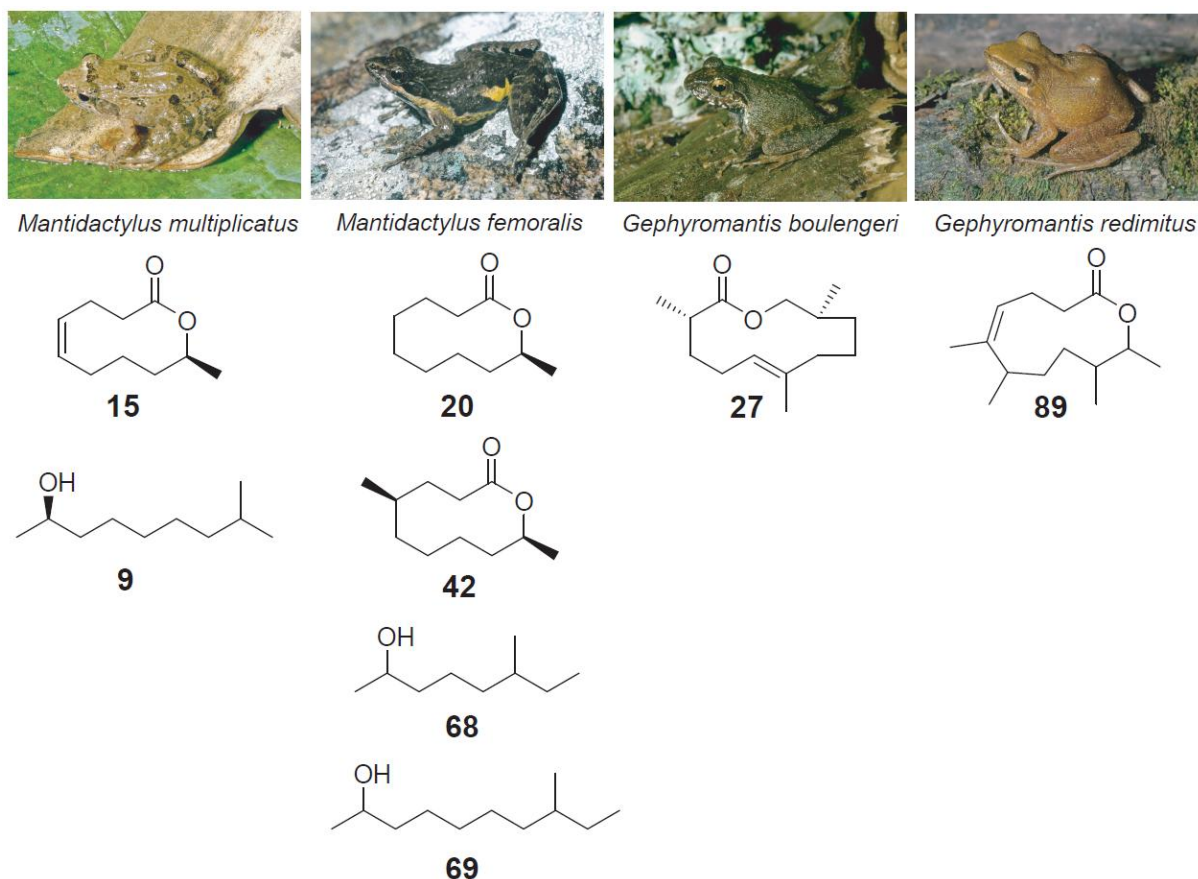


Abbildung 65: Übersicht über die Strukturen der aufgeklärten Naturstoffe aus den untersuchten Froscharten

Hier sind die beiden in *Mantidactylus multiplicatus* vorkommenden Verbindungen Phoracantholid J (**15**) und (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (**9**) besonders hervorzuheben. Nach erfolgreicher Strukturaufklärung konnte **15** über eine neue und kurze Syntheseroute

synthetisiert werden. Nachdem von **9** und **15** nach der Herstellung der jeweiligen Enantiomere die absolute Konfiguration der natürlichen Verbindungen bestimmt werden konnte, war es möglich ihre Bioaktivität in verschiedenen Biotests zu beweisen. Deshalb handelt es sich bei diesen Verbindungen um die beiden ersten identifizierten flüchtigen Amphibienpheromone überhaupt.

Auch die mit dem Phoracantholid J (**15**) verwandten Verbindungen Phoracantholid I (**20**) und Mantidactolid A (**42**) aus *Mantidactylus femoralis* könnten in Zukunft auf ihre pheromonale Wirkung getestet werden.

Die erfolgreiche Strukturaufklärung des neuen Naturstoffes Mantidactolid A (**42**) durch die Durchführung verschiedener strategischer Synthesen zeigt einen besonderen Zugang zu neuen Strukturen, für die keine NMR-Daten vorliegen. Hier wurden anhand der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Daten Strukturvorschläge erarbeitet, welche durch Überlegungen zur möglichen Biosynthese in eine Prioritätenliste eingeordnet wurden. Schon die dritte synthetisierte Zielverbindung entsprach dem Naturstoff, von dem anschließend über eine variable stereoselektive Syntheseroute alle Enantiomere des Naturstoffes hergestellt werden konnten. Abschließend konnte auch hier die absolute Konfiguration des Makrolides **42** mittels chiraler Gaschromatographie aufgeklärt werden.

Die Strukturen der beiden Alkohole **68** und **69** aus *Mantidactylus femoralis* konnte durch Analyse der Massenspektren aufgeklärt werden. Es konnte anschließend für beide Verbindungen eine stereoselektive Syntheseroute entwickelt werden, die vom selben Intermediat **73** ausgeht. Hier ist in Zukunft eine Synthese aller Enantiomere erforderlich, um die absolute Konfiguration der Alkohole im Drüsenextrakt mittels chiraler Gaschromatographie aufklären zu können.

Die Struktur von Gephyromantolid A (**27**) aus den Femoraldrüsen von *Gephyromantis boulengeri* wurde nach Auswertung der 2D-NMR-Daten, die im Rahmen meiner Masterarbeit stattfanden, postuliert. Die weiterführenden Untersuchungen während der Dissertation konnten den Strukturvorschlag durch eine Totalsynthese bestätigen. Die anschließende stereoselektive Synthese aller Enantiomere konnte über eine Route vollzogen werden, welche die beiden chiralen Methylgruppen durch die Verwendung eines chiralen Auxiliars stereoselektiv einführen konnte. Nach Optimierung der Ringschlussmetathese, die den Schlüsselschritt der Synthese darstellt, konnten alle Enantiomere von **27** hergestellt werden. Durch eine anschließende Untersuchung mittels chiraler GC konnte die absolute Konfiguration des neuen Naturstoffes Gephyromantolid A (**27**) aufgeklärt werden.

Aus dem Femoraldrüsenextrakt von *Gephyromantis redimitus* konnte ein weiterer neuer Naturstoff, Gephyromantolid B (**89**), isoliert werden. Nach extensiven 2D-NMR Experimenten konnte ein Strukturvorschlag erarbeitet werden. Dieser wurde anschließend durch die Totalsynthese auf einer geeigneten Syntheseroute bestätigt. In Zukunft kann durch eine stereoselektive Synthese der verschiedenen Enantiomere die absolute Konfiguration des Naturstoffes mit chiralen Gaschromatographie aufgeklärt werden. Danach könnten auch die beiden neuen Naturstoffe Gephyromantolid A (**27**) und Gephyromantolid B (**89**) auf ihre pheromonale Wirkung in Biotests getestet werden.

Neben den in Abbildung 65 dargestellten charakterisierten Verbindungen konnten in den Femoraldrüsenextrakten noch viele weitere flüchtige Verbindungen nachgewiesen werden. Alle in den insgesamt 136 analysierten Femoraldrüsenextrakten nachgewiesenen Verbindungen wurden in eine interne Datenbank aufgenommen. Eine Analyse dieser Daten zeigte, dass in 25 der 40 untersuchten Arten flüchtige Verbindungen in den Drüsenextrakten vorhanden sind. Dabei treten diese Verbindungen in artspezifischen Mischungen auf, nur einige Arten verwenden dieselben potentiellen Pheromone. So trat 8-Methylnonan-2-ol (**9**) sowohl in den Drüsenextrakten von *Mantidactylus multiplicatus* als auch in einigen Individuen von *Mantidactylus femoralis* auf. Auch das in *Mantidactylus femoralis* vorkommende Phoracantholid I (**20**) konnte in den Arten *Mantidactylus biporus*, *Mantidactylus albofrenatus* und *Mantidactylus charlotteae* nachgewiesen werden. Gephyromantolid A (**89**) kam in *Gephyromantis boulengeri* und in *Gephyromantis decaryi* vor.

Bei vielen dieser unbekannten flüchtigen Verbindungen handelt es sich nach einer Analyse der Massenspektren um weitere neue Naturstoffe mit makrolider Struktur. Auf der in dieser Arbeit geschaffenen Grundlage eines großen Datensatzes an gaschromatographischen und massenspektrometrischen Daten ist in Zukunft die Strukturaufklärung weiterer neuer Naturstoffe möglich. Dazu müssen diese Verbindungen entweder aus den Femoraldrüsenextrakten isoliert werden, um anschließend die Struktur mit spektroskopischen Methoden zu lösen. Oder es muss eine Strukturaufklärung aus einem synthetischen Ansatz heraus versucht werden, indem alle aus den Massenspektren abgeleiteten Strukturvorschläge durch Synthese überprüft werden.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Mantelliden eine enorme Vielfalt an interessanten Verbindungen in ihren Femoraldrüsen speichern. Es wurde außerdem bewiesen, dass alle bislang getesteten Verbindungen als Pheromone wirken. Die Aufklärung der genauen

Funktion der verschiedenen synthetisierten Naturstoffe in weiteren Biotests kann dazu beitragen, das besondere Paarungsverhalten und die chemische Kommunikation dieser Froschfamilie besser zu verstehen.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wurden Hautextrakte verschiedener Arten der Froschfamilie Eleutherodactylidae aus Kuba auf das Vorkommen von Alkaloiden untersucht. Durch gaschromatographisch-massenspektrometrischen Untersuchungen konnten auf der Haut von *Eleutherodactylus iberia* verschiedene Alkaloide nachgewiesen werden. Bei diesen Verbindungen handelt es sich um fünf Pumiliotoxine, die vorwiegend schon aus anderen giftigen Froschfamilien bekannten sind. Die Struktur dieser Pumiliotoxine konnte anhand der massenspektrometrischen Daten aufgeklärt werden. Außerdem wurden noch zwei Indolizidine nachgewiesen, deren Struktur aufgrund der niedrigen Konzentration noch nicht bestimmt werden konnte.

Diese Ergebnisse haben eine große wissenschaftlicher Relevanz, da gezeigt werden konnte, dass Vertreter der Familie der Eleutherodactylidae Alkaloide enthalten. Die Eleutherodactylidae sind damit erst die fünfte Froschfamilie überhaupt, die Alkaloide in der Haut speichern.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurden weitere 13 *Eleutherodactylus* Arten auf das Vorkommen von Alkaloiden untersucht. Die GC/MS Analyse der Hautextrakte zeigte, dass in 10 der insgesamt 14 untersuchten Arten Alkaloide auftreten. Von einigen dieser Verbindungen konnte anschließend die Struktur aufgeklärt werden. Es handelt sich bei ihnen um weitere Pumiliotoxine und Indolizidine. Einige der bisher unbekannten Alkaloide wurden mit hochauflösenden massenspektrometrischen Methoden analysiert, um die Molekülzusammensetzung zu erhalten. Anhand dieser Daten können in Zukunft Strukturvorschläge erarbeitet werden, welche dann durch Synthese überprüft werden können. Insgesamt konnte das Vorkommen von Alkaloiden in allen mit dem *Eleutherodactylus iberia* eng verwandten Arten aus der *Eleutherodactylus limbatus* Gruppe gezeigt werden.

5 EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Allgemeines

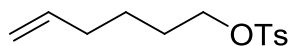
Alle kommerziell erhältlichen Ausgangsverbindungen wurden von den Firmen Sigma-Aldrich und Acros bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Technische Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert. Alle Reaktionen mit luft- oder wasserempfindlichen Substanzen wurden in ausgeheizten Apparaturen und unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen wurden mit Kieselgelfolie Polygram® SIL G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel) durchgeführt. Die Detektion erfolgte mit UV-Licht (254 nm) oder mit einer 10 % ethanolischen Phosphomolybdatlösung als Anfärbereagenz. Die Säulenchromatographischen Trennungen wurden auf Kieselgel M60 (0.04-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) (Macherey-Nagel) unter Druck oder mit einem Säulenchromatographiesystem (Combi Flash® Companion, Teledyne Isco) mit dem jeweils angegebenen Laufmittel durchgeführt. NMR-Spektren wurden mit den folgenden Instrumenten aufgenommen: BRUKER DPX-200 (¹H 200 MHz, ¹³C 50.5 MHz), DRX-400 (¹H 400 MHz, ¹³C 101 MHz) oder AV II-600 (¹H 600 MHz, ¹³C 151 MHz). Die chemische Verschiebung ist in ppm relativ zum verwendeten internen Standard Tetramethylsilan ($\delta = 0$) angegeben. Die gaschromatographisch-massenspektrometrischen Untersuchungen (GC/MS) wurden auf einem HP 6890 Gaschromatographen mit angeschlossenem MSD 5973 (EI 70 eV) (Hewlett Packard) und auf einem GC 7890A und gekoppelten MSD 5975C (Agilent Technologies) durchgeführt. Die Trennung erfolgte dabei auf den fused-silica-Kapillarsäulen BPX-5 (SGE Inc., 25 m x 0.22 mm I.D. x 0.25 μ m) oder HP5-MS (Agilent Technologies, 30 m x 0.25 mm I.D. x 0.25 μ m). Die chirale Gaschromatographie wurde auf Hydrodex-6-TBDMS Phase (Macherey-Nagel, 25 m x 0.25 mm i.D.) oder einer Lipodex-G Phase (Macherey-Nagel, 50 m x 0.25 mm i.D.) durchgeführt. Die Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden mit einem Propol Digital Automatic Polarimeter (Dr. Kernchen) in einer 1 cm langen Küvette bei einer Wellenlänge von 578 nm mit DCM als Lösungsmittel bestimmt.

5.2 Derivatisierung mit *N*-Methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamid (MSTFA)

Es wurden ca. 30 μ L MSTFA zu der synthetischen oder natürlichen Probe in 100 μ L DCM gegeben und anschließend für 1 h auf 60 °C erwärmt.^[79] Das überschüssige MSTFA und das Lösungsmittel wurden im Stickstoffstrom abgepustet. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mittels GC/MS analysiert.

5.3 Synthesen

5.3.1 Darstellung von 4-Methylbenzenesulfonsäurehex-5-enylester (11)



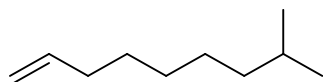
Nach der Methode von DOAN et al.^[80] wurde eine Lösung von Hex-5-en-1-ol (15 g, 0.15 mol) und Pyridin (24.14 mL, 0.3 mol) in trockenem DCM (150 mL) hergestellt und auf 0 °C gekühlt. Dann wurde *p*-Tosylchlorid (42.7 g, 0.225 mol) dazu gegeben und die Reaktionslösung für 1 h im Ultraschallbad bestrahlt. Anschließend wurde durch Zugabe von 100 mL H₂O aufgearbeitet und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 2 N wässriger HCl-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über MgSO₄ und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde der reine 4-Methylbenzenesulfonsäurehex-5-enylester (36.2 g, 0.142 mol, 95 %) erhalten.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.79 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H), 7.35 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H), 5.79-5.65 (m, 1 H), 5.00-4.91 (m, 2 H), 4.03 (t, *J* = 6.4 Hz, 2 H), 2.45 (s, 3 H), 2.00 (m, 2 H), 1.70-1.61 (m, 2 H), 1.46-1.36 (m, 2 H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 144.7, 137.9, 133.2, 129.8, 115.1, 70.4, 32.9, 28.2, 24.5, 21.6.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 39 (15), 41 (23), 54 (67), 65 (32), 67 (71), 81 (33), 82 (99), 91 (100), 155 (34), 173 (12), 226 (0.1) [M]⁺.

5.3.2 Darstellung von 8-Methylnon-1-en (12)



In Anlehnung an die Methode von MORI et al.^[81] wurde zu einer Suspension von Magnesiumspänen (8.85 g, 0.36 mol) in 80 mL trockenem THF 1 mL 1,2-Dibromethan zugetropft. Dann wurde 1-Bromo-2-methylpropan (46.6 g, 0.27 mol) tropfenweise hinzugegeben, so dass die Reaktionsmischung leicht siedet. Dann wurde die Lösung für 1 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit einer Kanüle in eine Lösung von 4-Methylbenzolsulfonsäurehex-5-enylester (36.2 g, 0.142 mol) in 150 mL trockenem THF überführt. Danach wurden 5 mL einer 0.1 M Lösung von Lithiumtetrachlorocuprat in THF

zugetropft und die entstandene Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit Et_2O gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Et_2O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über MgSO_4 und dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit 100 % Pentan als Laufmittel durchgeführt. Als Produkt wurde reines 8-Methylnon-1-en (14.7 g, 0.105 mol, 74 %) erhalten.

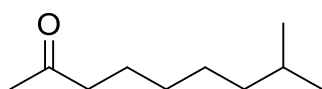
$R_f = 0.9$ (Pentan).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.8$ (m, 1 H), 4.98 (d, $J = 17$ Hz, 1 H), 4.92 (d, $J = 10$ Hz, 1 H), 2.00 (m, 2 H), 1.5 (m, 1 H), 1.4-1.34 (m, 2 H), 1.32-1.27 (m, 4 H), 1.19-1.12 (m, 2 H), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 6 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.2, 113.5, 38.9, 33, 28.9, 28.8, 28.1, 27.2, 22.7$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (25), 41 (65), 43 (52), 56 (100), 69 (76), 83 (27), 97 (18), 112 (11), 125 (9), 140 (2) $[\text{M}]^+$.

5.3.3 Darstellung von 8-Methylnonan-2-on (13)



Die Wacker-Oxidation wurde nach der Methode von SMITH et al.^[82] durchgeführt. Durch eine Suspension von Palladiumchlorid (2.4 g, 0.013 mol) und Kupfer(II)acetat (6.12 g, 0.026 mol) in einer Mischung von 90 mL H_2O und 900 mL DMF wurde O_2 geleitet. Es wurde 8-Methylnon-1-en (18.5 g, 0.132 mol) hinzugegeben und die Reaktionslösung für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde mit H_2O verdünnt und dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/ Et_2O 19:1 gereinigt. Es wurde 8-Methylnonan-2-on (18.1 g, 0.116 mol, 88 %) erhalten.

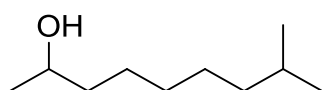
$R_f = 0.2$ (Pentan/Et₂O 19:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 2.45\text{--}2.38$ (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 2.13 (s, 3 H), 1.56–1.48 (m, 2 H), 1.55–1.45 (m, 1 H), 1.31–1.24 (m, 4 H), 1.21–1.15 (m, 2 H), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 6 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): $\delta = 208.7, 43.9, 38.8, 29.9, 29.5, 27.9, 27.2, 23.9, 22.7$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (87), 55 (13), 58 (100), 71 (35), 82 (16), 98 (6), 123 (5), 138 (1), 156 (5) [M]⁺.

5.3.4 Darstellung von 8-Methylnonan-2-ol (rac-9)



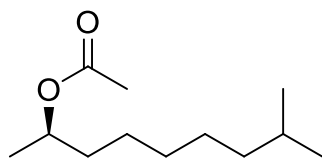
Zur Reduktion von Keton **13**^[83] wurde LAH (1.9 g, 0.05 mol) in 100 mL abs. Et₂O suspendiert. Dazu wurde eine Lösung 8-Methylnonan-2-on (14.6 g, 0.093 mol) in 50 mL abs. Et₂O tropfenweise hinzugegeben, sodass die Reaktionsmischung leicht siedete. Nach Beendigung der Zugabe wurde für 1 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0 °C abgekühlt. Die Reaktion wurde mit Eiswasser aufgearbeitet und der Niederschlag mit 10 % H₂SO₄-Lösung gelöst. Dann wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde reines 8-Methylnonan-2-ol (10.1 g, 0.064 mmol, 69 %) erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.84\text{--}3.75$ (m, 1 H), 1.56–1.45 (m, 2 H), 1.42–1.29 (m, 3 H), 1.24–1.07 (m, 4 H), 1.18 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H), 0.86 (d, $J = 6.6$ Hz, 6 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): $\delta = 68.2, 39.4, 38.9, 29.9, 27.9, 27.4, 25.8, 23.5, 22.6$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (23), 43 (27), 45 (100), 57 (31), 69 (37), 83 (16), 97 (7), 112 (9), 125 (5), 143 (4), 158 (0.04) [M]⁺.

5.3.5 Darstellung von Essigsäure-(*R*)-8-methylnonan-2-ylester (14)



Die enzymatische Racematspaltung wurde nach der Methode von TANAKA et al.^[47] durchgeführt. Zu einer Lösung von 8-Methylnonan-2-ol (3.9 g, 24.6 mmol) in 175 mL Vinylacetat und 4 Å Molekularsieb (1 g) wurden 1.43 g Amano Lipase PS (aus *Burkholderia cepacia*) gegeben. Die Reaktionslösung wurde bei 40 °C gerührt. Der Umsatz wurde alle 3 h durch GC/MS-Analyse überprüft. Nach 15 h erreichte der Umsatz 45 % und die Reaktion wurde durch Abfiltrieren des Enzyms und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer gestoppt. Die säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/Et₂O 2:1 lieferte das gewünschte Produkt Essigsäure-(*R*)-8-methylnonan-2-ylester (2.06 g, 10.3 mmol, 42 %).

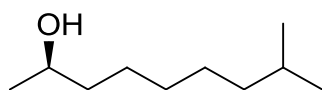
$R_f = 0.75$ (Pentan/Et₂O 2:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4.93-4.84 (m, 1 H), 2.02 (s, 3 H), 1.65-1.38 (m, 3 H), 1.22 (m, 2 H), 1.19 (d, J = 6.3 Hz, 3 H), 1.16-1.06 (m, 6 H), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 6 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 171.1, 71.1, 38.9, 36.0, 29.8, 28, 27.3, 25.5, 22.7, 21.5, 20.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (20), 43 (100), 56 (38), 69 (29), 84 (13), 87 (40), 97 (8), 112 (9), 125 (10), 140 (7), 157 (1).

5.3.6 Darstellung von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (9)



In Anlehnung an die Methode von OIKAWA et al.^[84] wurde eine Natriummethanolatlösung durch langsame Zugabe von 15 mL MeOH zu Natriumhydrid (0.228 g, 7.6 mmol) (60 % in Mineralöl) hergestellt. Diese Lösung wurde für 30 min gerührt und dann in eine Lösung von Essigsäure-(*R*)-8-methylnonan-2-ylester (1.45 g, 7.25 mmol) in 20 mL MeOH bei 0 °C überführt. Nach 3 h wurde die Reaktion durch Zugabe von Essigsäure aufgearbeitet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in gesättigter NaHCO₃-Lösung aufgenommen und viermal mit DCM extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO₄ und dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das

Rohprodukt säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/Et₂O 9:1 aufgereinigt. Als Produkt wurde (*R*)-8-Methylnonan-2-ol (1.04 g, 6.6 mmol, 87 %) erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 3.84-3.75 (m, 1 H), 1.56-1.45 (m, 2 H), 1.42-1.29 (m, 3 H), 1.24-1.07 (m, 4 H), 1.18 (d, *J* = 6.2 Hz, 3 H), 0.86 (d, *J* = 6.6 Hz, 6 H).

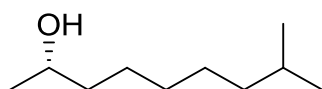
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 68.2, 39.4, 38.9, 29.9, 27.9, 27.4, 25.8, 23.5, 22.6.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 41 (23), 43 (27), 45 (100), 57 (31), 69 (37), 83 (16), 97 (7), 112 (9), 125 (5), 143 (4), 158 (0.04) [M]⁺.

[α]_D = - 8.7 (22.3 °C, c = 0.19 mol/L, DCM).

ee = 90 % (GC).

5.3.7 Darstellung von (*S*)-8-Methylnonan-2-ol (9)

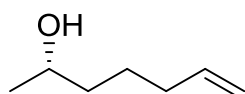


Dieser Alkohol wurde durch die bei 5.3.5 beschriebene enzymatische Racematspaltung gewonnen, wobei die Reaktion bei 55 % Umsatz (24 h) gestoppt wurde und der unreaktierte Alkohol abgetrennt wurde.

[α]_D = + 6.4 (22.3 °C, c = 0.18 mol/L, DCM).

ee = 62 % (GC).

5.3.8 Darstellung von (*S*)-Hept-6-en-2-ol (16)



Nach der von YU et al.^[54] beschriebenen Vorschrift wurde But-3-enylmagnesiumbromid durch tropfenweise Zugabe von 4-Brombut-1-en (10 g, 74 mmol) zu einer Suspension von aktivierten Magnesiumspänen (1.88 g, 77 mmol) in 50 mL abs. Et₂O hergestellt. Diese Lösung wurde bei Raumtemperatur für 3 h gerührt, dann zu einer auf -20 °C gekühlten Lösung von Kupfer(I)cyanid (0.66 g, 7.4 mmol) in 60 mL THF über eine Kanüle hinzugegeben. Nach 20 min wurde langsam (*S*)-2-Methyloxiran (3.43 g, 59 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde für 12 h bei 0 °C gerührt und anschließend mit gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Essigsäureethylester

extrahiert und anschließend wurden die organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch auf Kieselgel gereinigt. Es wurde ein Laufmittelgemisch von Pentan/Diethylether 9:1 verwendet und das Produkt (*S*)-Hept-6-en-2-ol (6.12 g, 54 mmol, 91 %) erhalten.

$R_f = 0.35$ (Pentan/ Et_2O 9:1).

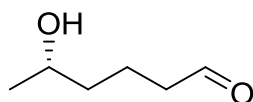
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.81$ (m, 1 H), 4.96-5.04 (m, 1 H), 4.93-4.99 (m, 1 H), 3.88 (m, 1 H), 2.08 (m, 2 H), 1.37-1.58 (m, 4 H), 1.19 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.7, 114.6, 68.0, 38.7, 33.7, 25.0, 23.5$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (31), 45 (100), 54 (54), 71 (23), 81 (48), 96 (7), 114 (1) $[\text{M}]^+$.

$[\alpha]_D = +8.7$ (25.5 °C, $c = 0.27$ mol/L, DCM) (Lit. = +9.9 (22 °C)) ^[85].

5.3.9 Darstellung von (*S*)-5-Hydroxyhexanal (18)



Zur Durchführung der LEMIEUX-JOHNSON-Oxidation^[86] wurde (*S*)-Hept-6-en-2-ol (**4**) (6.12 g, 54 mmol) in einer Mischung von 400 mL Dioxan und 150 mL H_2O bei Raumtemperatur gelöst. Zu dieser Lösung wurde Kaliumosmat (0.12 g, 0.33 mmol) gegeben. Nach 5 min wurde Natriumperiodat (25 g, 108 mmol) portionsweise über einen Zeitraum von 30 min hinzugefügt. Die Lösung wurde für 2 h gerührt und anschließend mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/ Et_2O 3:1 gereinigt. Es wurde das Produkt (*S*)-5-Hydroxyhexanal (4.4 g, 38.3 mmol, 71 %) erhalten. Laut NMR liegt es in der Halbacetalform vor.

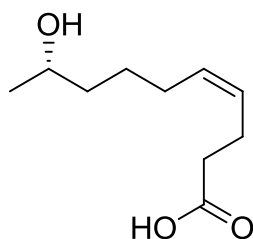
$R_f = 0.2$ (Pentan/ Et_2O 3:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.31$ (m, 1 H), 4.72 (m, 1 H), 1.73-1.59 (m, 2 H), 1.42-1.26 (m, 4 H), 1.23 (m, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 94.1, 68.9, 33.0, 31.1, 22.4, 20.5$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 42 (100), 44 (56), 55 (49), 57 (20), 70 (66), 88 (36), 98 (3), 101 (5), 116 (11) $[\text{M}]^+$.

5.3.10 Darstellung von (9S,4Z)-9-Hydroxydec-4-ensäure (19)



Nach der Methode von YOSHIMITSU et al.^[87] wurde (3-Carboxypropyl)triphenylphosphoniumbromid durch Rühren von 4-Brombuttersäure (5 g, 30 mmol) und Triphenylphosphin (7.86 g, 30 mmol) in 50 mL abs. Toluol für 72 h unter Rückfluss hergestellt. Das resultierende Wittigsalz (6.45 g, 18.4 mmol) wurde dann in 120 mL abs. THF gelöst und auf -78 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde *n*-BuLi (1.6 M in Hexan, 23.1 mL, 37 mmol) getropft und bei -78 °C für 10 min, bei 0 °C für 30 min gerührt und anschließend wieder auf -78 °C gekühlt. In einem separaten Kolben wurde (*S*)-5-Hydroxyhexanal (**5**) (1.06 g, 9.2 mmol) in 60 mL abs. THF gelöst, auf -78 °C gekühlt und mit NaHMDS (1.0 M in THF, 10 mL, 10 mmol) versetzt. Das entstandene Alkoxid wurde nach 10 min langsam mit einer Spritze in die Lösung des Phosphorans überführt. Die Reaktionsmischung wurde daraufhin 10 min bei -78 °C, 10 min bei 0 °C und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde durch die Zugabe von ges. NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und mit Et₂O extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/Et₂O 2:1 säulenchromatographisch gereinigt. (9S,4Z)-9-Hydroxydec-4-ensäure (1.18 g, 6.35 mmol, 69 %) wurde als Produkt erhalten.

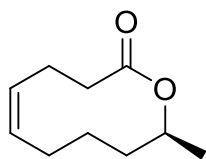
$R_f = 0.15$ (Pentan/Et₂O 2:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 5.51-5.28 (m, 1 H), 5.2-4.85 (m, 1 H), 3.82 (m, 1 H), 2.39-2.36 (m, 4 H), 2.07 (m, 2 H), 1.51-1.38 (m, 4 H), 1.19 (d, J = 6.2 Hz, 3 H)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 171.2, 131.3, 127.5, 68.2, 38.9, 34.0, 29.9, 27.0, 25.7, 22.6.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 67 (15), 73 (100), 80 (26), 108 (18), 117 (74), 133 (14), 143 (32), 147 (27), 150 (23), 154 (17), 198 (22), 204 (23), 315 (15), 330 (3) [M]⁺. (MSTFA-Derivat)

5.3.11 Darstellung von (S)-Phoracantholid J (15)



Nach der Zyklisierungsmethode von KITAHARA et al.^[48] wurde zu einer Lösung von (9S,4Z)-9-Hydroxydec-4-ensäure (**6**) (160 mg, 0.62 mmol) in 5 mL abs. Toluol Triphenylphosphin (180 mg, 0.69 mmol) und Dipyridyldisulfid (152 mg, 0.69 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit 15 mL abs. Toluol verdünnt und mit einer Spritzenpumpe über einen Zeitraum von 12 h zu einer Lösung von AgClO_4 (210 mg, 0.94 mmol) in 300 mL refluxierendem Toluol getropft. Nach beendeter Zugabe wurde für weitere 2 h gerührt und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Et_2O gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Reinigung des Rohprodukts auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/Diethylether 19:1 wurde das Produkt (S)-Phoracantholid J (27 mg, 0.16 mmol, 26 %) erhalten.

$R_f = 0.4$ (Pentan/ Et_2O 19:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.46$ (tdd, $J = 11.0, 5.6, 2.0$ Hz, 1 H), 5.36 (td, $J = 11.2, 4.0$ Hz, 1 H), 5.10 (qdd, $J = 6.7, 4.2, 2.3$ Hz, 1 H), 2.62 - 2.83 (m, 2 H), 2.53 (dt, $J = 14.7, 4.0$ Hz, 1 H), 2.22 (ddd, $J = 14.7, 12.9, 4.3$ Hz, 1 H), 1.81 - 1.99 (m, 4 H), 1.30 - 1.53 (m, 2 H), 1.26 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H).

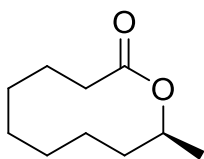
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 172.0, 132.2, 127.1, 70.9, 34.9, 29.6, 25.6, 22.4, 22.3, 17.4$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (100), 55 (61), 67 (95), 71 (63), 81 (47), 85 (40), 95 (26), 113 (39), 126 (23), 139 (5), 150 (13), 168 (16) $[\text{M}]^+$.

$[\alpha]_D = +7.9$ (25.6 °C, $c = 0.18$ mol/L, DCM) (Lit. = +35.1 (22 °C))^[48].

ee = 99 % (GC).

5.3.12 Darstellung von (S)-Phoracantholid I (20)



Zur Reduktion der Doppelbindung nach der Methode von KITAHARA et al.^[48] wurde zu einer Lösung von (S)-Phoracantholid J (20 mg, 0.11 mmol) in 1 mL abs. Methanol in einem Analysefläschchen 10 mg 10 % Palladium auf Aktivkohle gegeben. Durch die Reaktionslösung wurde für 5 h ein Wasserstoffstrom von 1 bar geleitet. Dann wurde der Katalysator abfiltriert und das Methanol im Heizblock im Stickstoffstrom verdampft. (S)-Phoracantholid I (14 mg, 0.082 mmol, 75 %) wurde als Produkt erhalten.

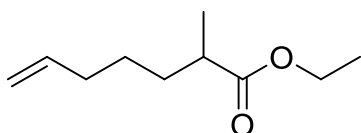
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 5.00 (quind, J = 6.6, 2.8 Hz, 1 H), 2.48 (ddd, J = 15.5, 6.1, 2.9 Hz, 1 H), 2.12 - 2.22 (m, 1 H), 1.89 - 2.08 (m, 2 H), 1.70 - 1.81 (m, 1 H), 1.35 - 1.61 (m, 8 H), 1.27 (d, J = 6.3 Hz, 3 H), 1.00 - 1.11 (m, 1 H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 174.0, 72.6, 35.2, 31.4, 27.1, 24.2, 24.0, 23.4, 20.6, 19.4

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (68), 55 (79), 69 (33), 84 (52), 98 (100), 111 (13), 123 (11), 137 (3), 152 (11), 170 (1) [M]⁺.

ee = 99 % (GC).

5.3.13 Darstellung von 2-Methylhept-6-ensäureethylester

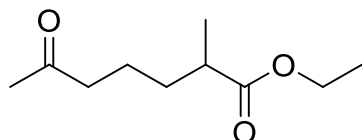


In Anlehnung an die Methode von GALLANT et al.^[88] wurde die LDA-Lösung durch Zugabe von *n*BuLi (1.6 M in Hexan, 30 mL, 48 mmol) zu einer Lösung von Diisopropylamin (10 mL, 72 mmol) in 30 mL abs. THF bei -20 °C hergestellt. Es wurde für 20 min gerührt und anschließend auf -78 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurde Hept-6-ensäureethylester (5 g, 32 mmol) in 30 mL abs. THF getropft und die Reaktionsmischung wurde für 30 min gerührt. Dann wurde Methyljodid hinzu getropft, anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Es wurde durch Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und die wässrige Phase dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das

Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde reiner 2-Methylhept-6-ensäureethylester (4.02 g, 23 mmol, 74 %) erhalten.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.66 - 5.90 (m, 1 H), 4.89 - 5.08 (m, 2 H), 4.05 - 4.21 (q, J = 7.3 Hz, 2 H), 2.28 - 2.54 (m, 1 H), 1.98 - 2.12 (m, 2 H), 1.81 - 1.89 (m, 1 H), 1.47 - 1.71 (m, 1 H), 1.31 - 1.46 (m, 2 H), 1.19 - 1.29 (t, J = 7.3 Hz, 3 H), 1.12 - 1.18 (d, J = 6.8 Hz, 3 H).
 ^{13}C NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 176.7, 138.5, 114.6, 60.1, 39.4, 33.6, 33.2, 26.5, 17.1, 14.2.
EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (29), 55 (56), 74 (50), 87 (10), 102 (100), 125 (13), 155 (1), 170 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.14 Darstellung von 2-Methyl-6-oxoheptansäureethylester (22)

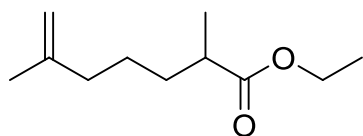


Analog zu der unter 5.3.3 beschriebenen Methode wurden Kupfer(II)acetat (0.85 g, 4.6 mmol) und Palladium(II)chlorid (0.4 g, 2.3 mmol) in einer Mischung aus 120 mL DMF und 20 mL H_2O gelöst. In diese Lösung wurde 2-Methylhept-6-ensäureethylester (4 g, 23 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung unter Sauerstoffatmosphäre 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde mit H_2O verdünnt und die wässrige Phase dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/ Et_2O 19:1. Es wurde der 2-Methyl-6-oxoheptansäureethylester (2.19 g, 11.7 mmol, 51 %) erhalten.

R_f = 0.1 (Pentan/ Et_2O 19:1).

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (100), 55 (23), 73 (26), 97 (21), 102 (37), 113 (24), 129 (40), 141 (20), 186 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.15 Darstellung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäureethylester

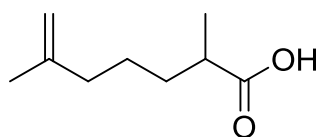


Nach der Methode von MORI^[89] wurde eine Lösung von Methyltriphenylphosphoniumbromid (4.78 g, 13.4 mmol) in 40 mL abs. THF hergestellt und auf -78 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde *n*BuLi (1.6 M in Hexan, 9.5 mL, 15.2 mmol) getropft und die Reaktionsmischung für 15 min gerührt. Dann wurde eine Lösung von 2-Methyl-6-oxoheptansäureethylester (2.19 g, 11.7 mmol) in 20 mL abs. THF zugetropft. Es wurde für 30 min bei -78 °C gerührt und anschließend langsam auf Raumtemperatur aufgetaut und für 2 h gerührt. Dann wurde durch Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und die wässrige Phase dreimal mit Et₂O extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO₄ und dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/Et₂O 19:1 durchgeführt. Es wurde der 2,6-Dimethylhept-6-ensäureethylester (1.46 g, 7.96 mmol, 68 %) isoliert.

$R_f = 0.2$ (Pentan/Et₂O 19:1).

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (33), 55 (39), 74 (63), 83 (33), 102 (100), 110 (15), 139 (20), 184 (7) [M]⁺.

5.3.16 Darstellung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäure (23)



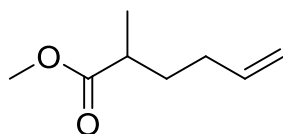
Zur Esterhydrolyse^[90] wurde zunächst 2,6-Dimethylhept-6-ensäureethylester (0.37 g, 2 mmol) in 10 mL Ethanol und 5 mL H₂O gelöst. Dazu wurde KOH (0.4 g, 7 mmol) gegeben und die Reaktionslösung für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt und das Ethanol am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde auf 0 °C abgekühlt, mit 2 N HCl angesäuert und fünfmal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Es wurde reine 2,6-Dimethylhept-6-ensäure (0.19 g, 1.21 mmol, 61 %) erhalten.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 4.69 (d, J = 6.8 Hz, 2 H), 2.32 - 2.57 (m, 1 H), 1.97 - 2.09 (m, 2 H), 1.71 (s, 3 H), 1.58 - 1.68 (m, 1 H), 1.36 - 1.57 (m, 3 H), 1.19 (d, J = 6.9 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 183.7, 146.1, 110.7, 39.9, 38.2, 33.7, 25.6, 22.9, 17.5.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (36), 55 (35), 73 (100), 86 (17), 95 (11), 110 (9), 119 (14), 130 (62), 146 (76), 159 (6), 213 (19), 228 (2) $[\text{M}]^+$. (MSTFA-Derivat)

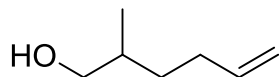
5.3.17 Darstellung von 2-Methylhex-5-ensäuremethylester



2-Methylhex-5-ensäuremethylester wurde analog der Vorschrift für 2-Methylhept-6-ensäureethylester (s. 5.3.13) hergestellt, ausgehend von Hex-5-ensäuremethylester.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (26), 55 (32), 67 (11), 83 (12), 88 (100), 101 (6), 111 (9), 142 (3) $[\text{M}]^+$.

5.3.18 Darstellung von 2-Methylhex-5-en-1-ol (24)



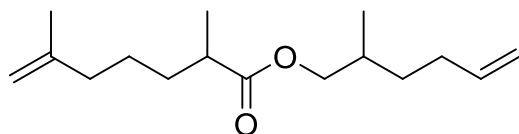
Zur Reduktion von 2-Methylhex-5-ensäuremethylester^[83] wurde zunächst LAH (0.95 g, 25 mmol) in 50 mL abs. Et_2O suspendiert. Dazu wurde eine Lösung 2-Methylhex-5-ensäuremethylester (1.77 g, 12.5 mmol) in 20 mL abs. Et_2O tropfenweise hinzugegeben, so dass die Reaktionsmischung leicht siedete. Nach Beendigung der Zugabe wurde für 1 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0 °C abgekühlt. Die Reaktion wurde mit Eiswasser aufgearbeitet und der Niederschlag mit 10 % H_2SO_4 -Lösung gelöst. Dann wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde reines 2-Methylhex-5-en-1-ol (1.18 g, 10.4 mmol, 83 %) erhalten.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.81 (ddt, J = 17.0, 10.3, 6.7 Hz, 1 H), 4.89 - 5.08 (m, 2 H), 3.36 - 3.57 (m, 2 H), 1.96 - 2.25 (m, 2 H), 1.85 (br. s., 1 H), 1.36 - 1.75 (m, 2 H), 1.20 - 1.36 (m, 1 H), 0.88 - 0.95 (d, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 138.9, 114.3, 68.0, 35.2, 32.3, 31.1, 16.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (73), 55 (89), 71 (34), 81 (100), 96 (15).

5.3.19 Darstellung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäure-2-methylhex-5-enylester (26)



In Anlehnung an die Methode von PATEL et al.^[91] wurde eine Lösung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäure (190 mg, 1.21 mmol), 2-Methylhex-5-en-1-ol (160 mg, 1.38 mmol) und DMAP (14 mg, 0.12 mmol) in 5 mL abs. DCM hergestellt und auf 0 °C gekühlt. Dann wurde EDC Hydrochlorid (255 mg, 1.32 mmol) zugegeben und die Reaktion für 1 h bei 0 °C und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit TBME verdünnt, mit gesättigter NaHCO_3 gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/ Et_2O 40:1 gereinigt. Als Produkt wurde der 2,6-Dimethylhept-6-ensäure-2-methylhex-5-enylester (162 mg, 0.64 mmol, 53 %) erhalten.

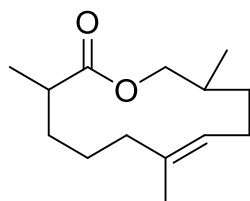
R_f = 0.3 (Pentan/ Et_2O 40:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.68 - 5.93 (m, 1 H), 4.89 - 5.10 (m, 2 H), 4.68 (d, J = 6.7 Hz, 2 H), 3.82 - 4.02 (m, 2 H), 2.27 - 2.53 (m, 1 H), 1.93 - 2.19 (m, 4 H), 1.63 - 1.92 (m, 6 H), 1.23 - 1.63 (m, 4 H), 1.15 - 1.22 (m, 3 H), 0.94 (d, J = 6.7 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 176.8, 145.5, 138.5, 114.5, 110.0, 68.9, 39.6, 37.6, 33.4, 32.5, 32.0, 31.0, 25.1, 22.2, 17.1, 16.7.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (29), 55 (100), 69 (41), 83 (50), 97 (36), 110 (18), 128 (15), 139 (17), 155 (5), 252 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.20 Darstellung von (*E*)-3,7,11-Trimethyloxacyclododec-7-en-2-on (27)

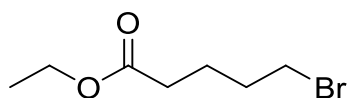


Nach der Methode von XUAN et al.^[59] wurde Grubbs-II-Katalysator Dichloro[1,3-bis-(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinyliden](phenylmethylen)(tricyclohexylphosphin)-ruthenium(II) (32 mg, 0.038 mmol) in 100 mL abs. DCM vorgelegt. Zu dieser Lösung wurde mit einer Spritzenpumpe über einen Zeitraum von 12 h eine Lösung von 2,6-Dimethylhept-6-ensäure-2-methylhex-5-enylester (65 mg, 0.25 mmol) in 50 mL abs. DCM zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe wurde für weitere 4 h gerührt und dann durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃-Lösung aufgearbeitet. Die Phasen wurden getrennt, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/Et₂O 40:1 wurde das gewünschte Produkt 3,7,11-Trimethyloxacyclododec-7-en-2-on (30 mg, 0.134 mmol, 54 %) als Gemisch der (*E*)- und (*Z*)-Isomere erhalten.

R_f = 0.3 (Pentan/Et₂O 40:1).

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 41 (100), 55 (58), 67 (70), 81 (51), 95 (43), 109 (39), 126 (41), 151 (10), 206 (1), 224 (7) [M]⁺.

5.3.21 Darstellung von 5-Brompentansäureethylester



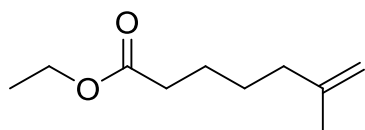
Zur Veresterung^[92] von 5-Brompentansäure mit Ethanol wurden die Säure (10 g, 0.054 mol) und H₂SO₄ (10 M, 0.27 mL, 0.0054 mol) in 100 mL Ethanol gelöst und unter Rückfluss für 6 h erhitzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht gerührt und anschließend das Ethanol am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in 50 mL TBME aufgenommen, mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde der reine 5-Brompentansäureethylester (9.27 g, 0.045 mol, 84 %) erhalten.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.42 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.34 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 1.98-1.73 (m, 4H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 172.2, 59.5, 32.5, 32.2, 31.2, 22.7, 13.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (18), 55 (91), 73 (17), 83 (27), 101 (100), 129 (23), 135 (17), 137 (17), 163 (17), 165 (17), 208 (1), 210 (1).

5.3.22 Darstellung von 6-Methylhept-6-ensäureethylester (31)



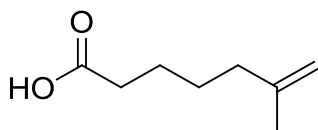
In Anlehnung an die Methode von KLIMENTOVÁ et al.^[93] wurde 5-Brompentansäureethylester (9.27 g, 45 mmol) in 200 mL trockenem THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde eine Lösung von Li_2CuCl_4 (0.1 M in THF, 50 mL, 5 mmol) getropft und die Reaktionslösung wurde für 30 min gerührt. Dann wurde Isopropenylmagnesiumbromid (0.5 M in THF, 100 mL, 50 mmol) über einen Zeitraum von 30 min zugetropft und die Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung aufgearbeitet und dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NH_4Cl -Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt bei einem Druck von 30 mbar destilliert und 6-Methylhept-6-ensäureethylester (6.96 g, 41 mmol, 91 %) erhalten.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 4.68 (m, 2 H), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 2.31 (t, J = 7.3 Hz, 2 H), 2.03 (t, J = 7.3 Hz, 2 H), 1.71 (s, 3 H), 1.67-1.42 (m, 4 H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 173.8, 145.5, 110.0, 60.2, 37.4, 34.2, 27, 24.6, 22.3, 14.2.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (31), 55 (48), 60 (12), 67 (23), 73 (15), 82 (100), 88 (16), 97 (12), 124 (23), 170 (7) $[\text{M}]^+$.

5.3.23 Darstellung von 6-Methylhept-6-ensäure



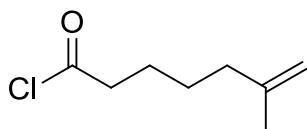
Nach der unter 5.3.16 beschriebenen Vorschrift wurde eine Lösung von 6-Methylhept-6-ensäureethylester (6.96 g, 41 mmol) und KOH (9.2 g, 164 mmol) in 100 mL Ethanol und 50 mL H₂O für 4 h unter Rückfluss erhitzt und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Ethanol wurde am Rotationsverdampfer entfernt und die verbleibende wässrige Phase auf 0 °C gekühlt und mit 2 M HCl angesäuert. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit Essigsäureethylester extrahiert und die kombinierten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Reine 6-Methylhept-6-ensäure (4.89 g, 34.4 mmol, 84 %) wurde erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 10.72 (br. s., 1 H), 4.69 (d, J = 6.32 Hz, 2 H), 2.32 - 2.42 (m, 2 H), 2.03 (t, J = 7.33 Hz, 2 H), 1.71 (s, 3 H), 1.44 - 1.67 (m, 4 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 180.1, 145.3, 110.1, 37.3, 33.9, 26.8, 24.2, 22.2.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (31), 55 (41), 61 (12), 67 (13), 69 (12), 75 (100), 82 (67), 96 (11), 107 (16), 117 (96), 124 (28), 129 (30), 181 (10), 199 (69), 214 (10) [M]⁺. (MSTFA-Derivat)

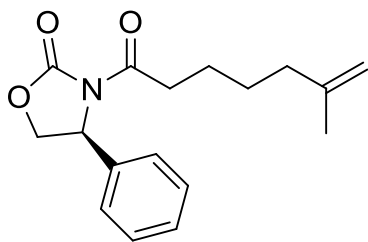
5.3.24 Darstellung von 6-Methylhept-6-ensäurechlorid



Nach der Methode von STANG et al.^[94] wurde eine Lösung von 6-Methylhept-6-ensäure (4.89 g, 34.4 mmol) in 60 mL abs. Et₂O hergestellt und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde Oxalylchlorid (8.73 g, 68.8 mmol) getropft, welche anschließend auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt wurde. Das Lösungsmittel und überschüssiges Oxalylchlorid wurden am Rotationsverdampfer entfernt und es wurde reines 6-Methylhept-6-ensäurechlorid (4.65 g, 28.89 mmol, 84 %) erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4.65 - 4.76 (m, 2 H), 2.91 (t, J = 7.1 Hz, 2 H), 1.98 - 2.09 (m, 2 H), 1.63 - 1.80 (m, 2 H), 1.71 (s, 3 H), 1.44 - 1.59 (m, 2 H).

5.3.25 Darstellung von (S)-3-(6-Methylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (32)



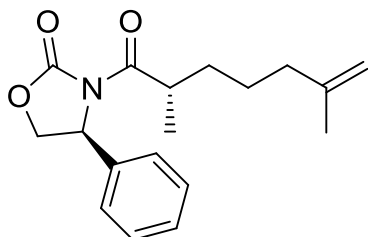
Nach der Vorschrift von AGER et al.^[95] wurde (S)-4-Phenyloxazolidin-2-on (1.88 g, 11.6 mmol) in 50 mL THF gelöst und auf -78 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden *n*-BuLi (1.6 M in Hexan, 8 mL, 12.8 mmol) zugetropft und für 30 min gerührt. Dann wurde 6-Methylhept-6-ensäurechlorid (2.07 g, 12.8 mmol) hinzugegeben und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt (S)-3-(6-Methylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (3.17 g, 10.55 mmol, 91 %) wurde erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 7.23 - 7.42 (m, 5 H), 5.41 (dd, *J* = 8.7, 3.7 Hz, 1 H), 4.60 - 4.72 (m, 2 H), 4.18 - 4.29 (m, 1 H), 3.68 - 3.77 (m, 1 H), 2.87 - 2.99 (m, 2 H), 1.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 2 H), 1.67 (s, 3 H), 1.34 - 1.64 (m, 4 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 171.9, 153.0, 144.6, 138.5, 128.3, 127.8, 125.2, 125.1, 109.2, 69.2, 56.8, 36.6, 34.6, 26.1, 23.0, 21.5.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 41 (26), 55 (58), 68 (14), 77 (32), 82 (22), 91 (37), 104 (61), 120 (73), 128 (12), 136 (37), 146 (18), 164 (53), 205 (100), 218 (34), 287 (5) [M]⁺.

5.3.26 Darstellung von (2`*S*,4*S*)-3-(2,6-Dimethylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (33)



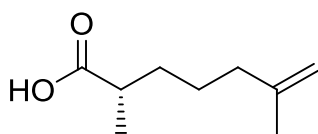
Nach Methode von AGER et al.^[95] wurde eine Lösung von (*S*)-3-(6-Methylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (3.17 g, 10.55 mmol) in 100 mL THF hergestellt und auf -78 °C gekühlt. Es wurde NaHMDS (1.0 M in THF, 15.8 mL, 15.8 mmol) zugetropft und die Reaktionsmischung für 30 min gerührt. Nach anschließender Zugabe von Methyljodid (6 g, 42 mmol) wurde auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und viermal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde (2`*S*,4*S*)-3-(2,6-Dimethylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (3.16 g, 10.02 mmol, 95 %) als Produkt gewonnen.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 7.23 - 7.42 (m, 5 H), 5.41 (dd, *J* = 8.7, 3.7 Hz, 1 H), 4.60 - 4.72 (m, 2 H), 4.18 - 4.29 (m, 1 H), 3.68 - 3.77 (m, 1 H), 2.87 - 2.99 (m, 1 H), 1.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 2 H), 1.67 (s, 3 H), 1.34 - 1.64 (m, 4 H), 1.08 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 176.7, 153.5, 145.5, 135.3, 129.0, 128.9, 128.9, 127.3, 127.2, 110.0, 67.9, 58.4, 37.9, 37.6, 32.9, 25.5, 22.3, 17.3.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 41 (17), 55 (23), 69 (22), 77 (14), 95 (15), 104 (44), 120 (26), 132 (10), 164 (30), 219 (100), 232 (3), 301 (1) [M]⁺.

5.3.27 Darstellung von (S)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure (28)



Analog zu der unter 5.3.16 beschriebenen Methode wurde zunächst (2'S,4S)-3-(2,6-Dimethylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (3.01 g, 10 mmol) in 80 mL MeOH und 40 mL H₂O gelöst. Dazu wurde KOH (2.25 g, 40 mmol) gegeben und die Reaktionslösung für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt und das MeOH am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde auf 0 °C abgekühlt, mit 2 N HCl angesäuert und fünfmal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 3:1 wurde das Produkt (S)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure (1.28 g, 8.2 mmol, 82 %) erhalten.

$R_f = 0.4$ (Pentan/TBME 3:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4.69 (d, J = 6.8 Hz, 2 H), 2.32 - 2.57 (m, 1 H), 1.97 - 2.09 (m, 2 H), 1.71 (s, 3 H), 1.58 - 1.68 (m, 1 H), 1.36 - 1.57 (m, 3 H), 1.19 (d, J = 6.9 Hz, 3 H).

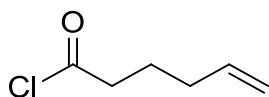
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 183.7, 146.1, 110.7, 39.9, 38.2, 33.7, 25.6, 22.9, 17.5.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (36), 45 (21), 55 (35), 69 (25), 73 (100), 82 (11), 86 (17), 95 (11), 119 (14), 130 (62), 143 (25), 146 (76), 213 (19), 228 (2) [M]⁺. (MSTFA-Derivat)

$[\alpha]_D = +11.7$ (23.5 °C, c = 0.14, DCM).

ee = 99 % (GC).

5.3.28 Darstellung von Hex-5-ensäurechlorid

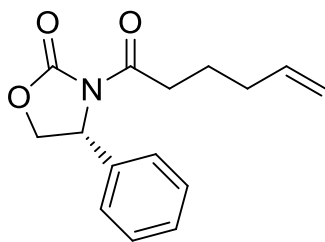


Dieses Säurechlorid wurde entsprechend der Vorschrift für 6-Methylhept-6-ensäurechlorid hergestellt (s. 5.3.24).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 5.75 (dd, J = 16.7, 10.4 Hz, 1 H), 4.99 - 5.12 (m, 2 H), 2.90 (t, J = 7.3 Hz, 2 H), 2.13 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 1.74 - 1.90 (m, 2 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 173.6, 136.6, 116.2, 46.2, 32.2, 24.1.

5.3.29 Darstellung von (*R*)-3-(Hex-5-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on



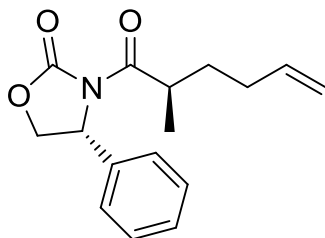
(*R*)-3-(Hex-5-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on wurde, wie in der unter 5.3.25 beschriebenen Vorschrift für **32** beschrieben, ausgehend von Hex-5-ensäurechlorid und (*R*)-4-Phenyloxazolidin-2-on hergestellt.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.25 - 7.44 (m, 5 H), 5.76 (ddt, J = 17.0, 10.3, 6.7 Hz, 1 H), 4.91 - 5.07 (m, 2 H), 4.68 (t, J = 8.8 Hz, 1 H), 4.26 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 4.28 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 2.94 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 1.95 - 2.15 (m, 2 H), 1.73 (q, J = 7.2 Hz, 2 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 172.6, 153.7, 139.1, 137.7, 129.1, 128.7, 125.9, 115.2, 69.9, 57.5, 34.8, 32.9, 23.2.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (51), 55 (36), 69 (36), 77 (46), 91 (56), 104 (100), 118 (94), 128 (10), 132 (20), 136 (39), 146 (13), 164 (36), 205 (57), 259 (64) $[\text{M}]^+$.

5.3.30 Darstellung von (2*R*,4*R*)-3-(2-Methylhex-5-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (**34**)



Die Verbindung **34** wurde, wie unter 5.3.26 für **33** beschrieben, durch Methylierung von (*R*)-3-(Hex-5-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on hergestellt.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.27 - 7.46 (m, 5 H), 5.87 (ddt, J = 17.0, 10.3, 6.7 Hz, 1 H), 5.12 - 5.24 (m, 2 H), 4.66 (t, J = 8.8 Hz, 1 H), 4.24 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 4.28 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 3.47 (m, 1 H), 1.99 - 2.11 (m, 2 H), 1.73 (q, J = 7.2 Hz, 2 H), 1.06 (d, J = 6.9 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 172.6, 153.7, 139.1, 137.3, 129.1, 128.7, 125.9, 114.5, 69.9, 57.5, 38.5, 32.9, 23.2, 16.8.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (26), 55 (34), 69 (18), 77 (21), 83 (13), 91 (13), 104 (66), 120 (31), 132 (16), 146 (8), 164 (37), 219 (100), 232 (7), 273 (9) $[\text{M}]^+$.

5.3.31 Darstellung von (*R*)-2-Methylhex-5-en-1-ol (29)



Analog zu der unter 5.3.17 beschriebenen Reduktion wurde eine Suspension von LAH (0.78 g, 20.76 mmol) in 50 mL abs. Et_2O hergestellt. Dazu wurde tropfenweise eine Lösung von (2'*R*,4*R*)-3-(2,6-Dimethylhept-6-enoyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (5.67 g, 20.76 mmol) in 40 mL abs. Et_2O hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht gerührt, mit TBME verdünnt und durch Zugabe von Eiswasser aufgearbeitet. Dann wurde solange 10 %ige H_2SO_4 -Lösung hinzugefügt, bis sich der Niederschlag komplett löste. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase fünfmal mit Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 9:1 lieferte reines (*R*)-2-Methylhex-5-en-1-ol (2.03 g, 17.85 mmol, 86 %).

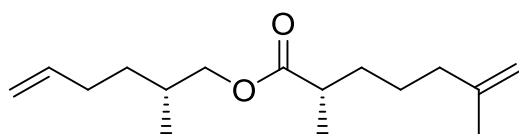
R_f = 0.15 (Pentan/TBME 9:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.81 (ddt, J = 17.0, 10.3, 6.7 Hz, 1 H), 4.89 - 5.08 (m, 2 H), 3.36 - 3.57 (m, 2 H), 1.96 - 2.25 (m, 2 H), 1.85 (br. s., 1 H), 1.36 - 1.75 (m, 2 H), 1.20 - 1.36 (m, 1 H), 0.88 - 0.95 (d, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 138.9, 114.3, 68.0, 35.2, 32.3, 31.1, 16.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (73), 55 (89), 67 (33), 71 (34), 81 (100), 96 (15).

$[\alpha]_D^{20} = +12.0$ (30.9 °C, c = 0.28, DCM) (>99 % ee) (Lit. = +10.2)^[96].

5.3.32 Darstellung von (S)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure-(R)-2-methylhex-5-enylester (35)

Nach der unter 5.3.19 beschriebenen Methode wurden (S)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure (300 mg, 1.92 mmol), (R)-2-Methylhex-5-en-1-ol (252 mg, 2.21 mmol) und DMAP (23 mg, 0.19 mmol) in 12 mL abs. DCM gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde EDC Hydrochlorid (405 mg, 2.11 mmol) zugegeben und die Reaktion für 1 h bei 0 °C und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit TBME verdünnt, mit gesättigter NaHCO₃ gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 40:1 säulenchromatographisch gereinigt. Als Produkt wurde der reine (S)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure-(R)-2-methylhex-5-enylester (445 mg, 1.76 mmol, 92 %) erhalten.

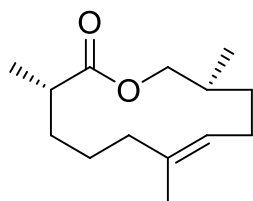
R_f = 0.3 (Pentan/TBME 40:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 5.68 - 5.93 (m, 1 H), 4.89 - 5.10 (m, 2 H), 4.68 (d, *J* = 6.7 Hz, 2 H), 3.82 - 4.02 (m, 2 H), 2.27 - 2.53 (m, 1 H), 1.93 - 2.19 (m, 4 H), 1.63 - 1.92 (m, 6 H), 1.23 - 1.63 (m, 4 H), 1.15 - 1.22 (m, 3 H), 0.94 (d, *J* = 6.7 Hz, 3 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 176.8, 145.5, 138.5, 114.5, 110.0, 68.9, 39.6, 37.6, 33.4, 32.5, 32.0, 31.0, 25.1, 22.2, 17.1, 16.7.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 41 (29), 55 (100), 69 (41), 74 (19), 83 (50), 97 (36), 110 (18), 128 (15), 139 (17), 155 (5), 170 (2), 252 (1) [M]⁺.

5.3.33 Darstellung von Gephyromantolid A (27)

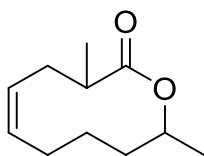


Nach der Methode von ROST et al.^[58] wurden (*S*)-2,6-Dimethylhept-6-ensäure-(*R*)-2-methylhex-5-enylester (37 mg, 0.15 mmol) und Hexafluorbenzol (2.5 mL, 0.1 M) in 250 mL abs. Toluol gelöst. Dann wurde der Stewart-Grubbs-II-Katalysator Dichloro[1,3-bis(2-methylphenyl)-2-imidazolidinyliden](2-isopropoxyphenylmethyl)ruthenium(II) (9 mg, 0.015 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 3 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃ aufgearbeitet, die Phasen getrennt und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 19:1 durchgeführt und ein Gemisch der (*E*)- und (*Z*)-Isomere des Gephyromantolid A (24 mg, 0.107 mmol, 71 %) erhalten. Die Isomere wurden auf einer preparativen HPLC reversed phase Säule (Phenomenex Gemini 5 μ C18, 60 % MeCN(aq) bis 75 % MeCN(aq) über 12 min, dann 90 % MeCN(aq) für 6 min, R_t = 7.91 min) getrennt und es wurde das gewünschte Produkt (3*S*,6*E*,10*R*)-3,7,10-Trimethyloxacyclododec-7-en-2-on (5 mg, 0.022 mmol, 15 %) isoliert.

¹H NMR (600 MHz, C₆D₆): δ = 5.25 (td, J = 7.9, 1.3 Hz, 1 H), 4.20 (dd, J = 10.7, 3.4 Hz, 1 H), 3.44 (dd, J = 10.8, 9.5 Hz, 1 H), 2.30 - 2.36 (m, 1 H), 1.93 - 2.03 (m, 2 H), 1.73 - 1.83 (m, 1 H), 1.58 - 1.71 (m, 2 H), 1.53 (s, 3 H), 1.33-1.38 (m, 2 H), 1.14 - 1.28 (m, 4 H), 1.05 (d, J = 7.0 Hz 3 H), 0.70 (d, J = 7.0 Hz, 3 H).

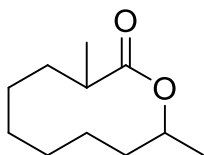
¹³C NMR (150 MHz, C₆D₆): δ = 175.7, 133.8, 127.5, 68.3, 41.2, 37.2, 34.7, 32.3, 25.2, 24.8, 22.9, 17.8, 17.6, 17.2.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (100), 55 (58), 67 (70), 81 (51), 95 (43), 109 (39), 126 (41), 151 (10), 163 (4), 206 (1), 209 (3), 224 (7) [M]⁺.

5.3.34 Darstellung von (Z)-3,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (43)

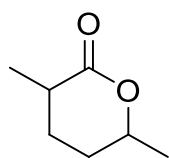
Nach der Methode von HONDA et al.^[97] wurde Phoracantholid J (20 mg, 0.12 mmol) in 1 mL DCM gelöst und dann NaHMDS (1 M in THF, 0.14 mL, 0.14 mmol) hinzugetropft. Die Lösung wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend Methyljodid (20 μ L, 0.32 mmol) hinzugegeben. Es wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt und dann durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung aufgearbeitet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt. Es wurde das gewünschte Produkt (Z)-3,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (15.7 mg, 0.086 mmol, 72 %) erhalten.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (56), 55 (54), 67 (100), 71 (34), 81 (52), 95 (29), 99 (41), 109 (49), 127 (38), 140 (23), 164 (14), 182 (40) $[\text{M}]^+$.

5.3.35 Darstellung von 3,10-Dimethyloxecan-2-on (40)

Die Hydrierung wurde analog zu 5.3.12. durchgeführt. Es wurde reines 3,10-Dimethyloxecan-2-on (10 mg, 0.053 mmol, 62 %) erhalten.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (84), 55 (100), 69 (75), 74 (28), 83 (29), 98 (99), 111 (48), 123 (11), 140 (15), 166 (13), 184 (8) $[\text{M}]^+$.

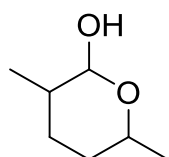
5.3.36 Darstellung von 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-on (45)

In Anlehnung an die unter 5.3.13 beschriebene Methode wurde zunächst zur Herstellung der LDA-Lösung Diisopropylamin (5.53 mL, 39.5 mmol) in 100 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde unter Rühren eine Lösung von *n*BuLi (1.6 M, 19.74 mL, 32 mmol) getropft und für 20 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde dann auf -78 °C abgekühlt und 6-Methyltetrahydro-2H-pyran-2-on (2.9 mL, 26.3 mmol) hinzugegeben. Nach weiteren 30 min Rühren erfolgte die Zugabe von Methyljodid (6.6 mL, 105.3 mmol) und die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Dann wurde die Reaktion mit gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und die wässrige Phase dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde reines 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-on (3.13 g, 24.45 mmol, 93 %) erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4.37 - 4.55 (m, 1 H), 2.40 - 2.68 (m, 1 H), 1.88 - 2.12 (m, 2 H), 1.49 - 1.69 (m, 2 H), 1.38 (d, *J* = 6.3 Hz, 3 H), 1.30 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 174.3, 74.3, 35.6, 30.8, 28.3, 21.0, 16.1.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 56 (100), 69 (37), 84 (19), 113 (3), 128 (2) [M]⁺.

5.3.37 Darstellung von 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-ol (46)

Nach der Methode von BABCOCK et al.^[98] wurde 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-on (1.5 g, 11.72 mmol) in 16 mL Et₂O vorgelegt und auf -10 °C gekühlt. Dazu wurde über einen Tropftrichter in 16 mL Et₂O suspendiertes LAH (0.2 g, 5.27 mmol) über einen Zeitraum von 30 min hinzugegeben. Die Lösung wurde anschließend auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 50 mL TBME verdünnt und auf 0 °C gekühlt.

Dann wurde die Reaktion zunächst durch Zugabe von 80 mL H₂O aufgearbeitet und der entstandene Niederschlag durch Zugabe von 2 mL konz. H₂SO₄ gelöst. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit TBME extrahiert. Nach Trocknung über MgSO₄ und der Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 durchgeführt. Es konnte das Produkt 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-ol (0.85 g, 6.5 mmol, 56 %) erhalten werden.

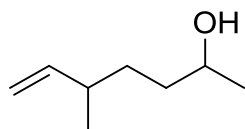
$R_f = 0.6$ (Pentan/TBME 2:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.8 - 4.84$ (dd, $J = 5.8, 2.5$ Hz, 1H), 3.95 - 4.21 (m, 1 H), 1.28 - 1.83 (m, 5 H), 1.23 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H), 0.96 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): $\delta = 97.1, 65.8, 33.7, 31.7, 26.2, 22.2, 16.9$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (100), 58 (78), 69 (68), 84 (66), 97 (9), 112 (6), 130 (4) [M]⁺.

5.3.38 Darstellung von 5-Methylhept-6-en-2-ol (47)



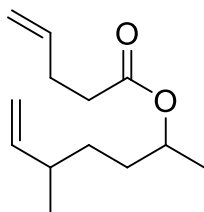
In Anlehnung an die unter 5.3.10 beschriebene Vorschrift wurde Methyltriphenylphosphoniumbromid (1.23 g, 3.45 mmol) in 15 mL THF vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Dann wurde *n*BuLi (1.6 M in THF, 2.25 mL, 3.6 mmol) zugegeben und für 1 h gerührt. In einem separaten Kolben wurde 3,6-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-2-ol (390 mg, 3 mmol) in 5 mL THF vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde NaHMDS (1.0 M in THF, 4 mL, 3.6 mmol) getropft und für 15 min gerührt. Anschließend wurde die Lösung des Alkoholats zur Lösung des Ylids getropft und langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Dann wurde durch Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung aufgearbeitet und die wässrige Phase dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Eine Reinigung mit dem automatischen Säulenchromatographiesystem lieferte das gewünschte Produkt 5-Methylhept-6-en-2-ol (119 mg, 0.92 mmol, 31 %).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.42 - 5.64 (m, 1 H), 4.72 - 4.87 (m, 2 H), 3.62 (m, 1 H), 1.87 - 2.05 (m, 1 H), 1.10 - 1.37 (m, 4 H), 1.04 (d, J = 6.1 Hz, 3 H), 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 144.5, 112.7, 68.2, 37.8, 37.0, 32.5, 23.4, 20.2.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 51 (21), 55 (100), 68 (99), 71 (51), 79 (12), 81 (39), 95 (81), 110 (5).

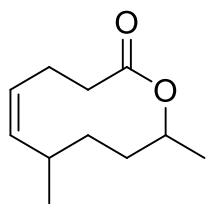
5.3.39 Darstellung von Pent-4-ensäure-5-methylhept-6-en-2-ylester (48)



Die Veresterung von 5-Methylhept-6-en-2-ol mit Pent-4-ensäure, analog der in 5.3.19 beschriebenen Prozedur, lieferte den Pent-4-ensäure-5-methylhept-6-en-2-ylester in 82 % Ausbeute.

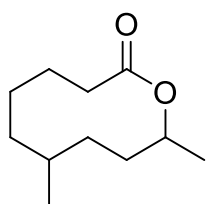
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.54 - 5.97 (m, 2 H), 4.80 - 5.16 (m, 5 H), 2.33 - 2.44 (m, 4 H), 1.92 - 2.20 (m, 1 H), 1.42 - 1.65 (m, 2 H), 1.23 - 1.38 (m, 2 H), 1.19 (d, J = 6.3 Hz, 3 H), 0.99 (d, J = 6.6 Hz, 3 H).

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (21), 55 (100), 68 (52), 83 (53), 95 (54), 100 (30), 110 (22), 128 (3), 155 (4), 195 (1).

5.3.40 Darstellung von (Z)-7,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (49)

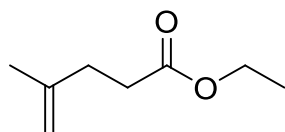
In Anlehnung an die unter 5.3.33 beschriebene Vorschrift wurde Pent-4-ensäure-5-methylhept-6-en-2-ylester (5 mg, 0.022 mmol) und Hexafluorbenzol (0.4 mL, 0.1 M) in 30 mL abs. Toluol gelöst. Dann wurde Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator Dichloro[1,3-bis-(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinyliden] (2-isopropoxyphenylmethyl)ruthenium(II) (2 mg, 0.003 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung für 6 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃ aufgearbeitet, die organische Phase abgetrennt und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Hochvakuum wurde das gewünschte Produkt (Z)-7,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (2 mg, 0.011 mmol, 48 %) als Mischung der Enantiomere erhalten.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (44), 55 (39), 67 (56), 81 (100), 85 (71), 99 (62), 109 (53), 122 (17), 127 (71), 140 (30), 167 (10), 182 (8) [M]⁺.

5.3.41 Darstellung von 7,10-Dimethyloxecan-2-on (41)

Eine Hydrierung von (Z)-7,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on, wie unter 5.3.12 beschrieben, führte zum 7,10-Dimethyloxecan-2-on.

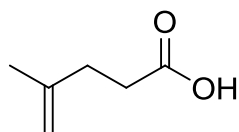
EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (64), 55 (97), 69 (36), 82 (73), 96 (48), 112 (100), 124 (35), 137 (16), 151 (10), 166 (5), 169 (4), 184 (1) [M]⁺.

5.3.42 Darstellung von 4-Methylpent-4-ensäureethylester (51)

Entsprechend der unter 5.3.22 beschriebenen Vorschrift wurde aus 3-Brompropionsäureethylester (3 g, 16.6 mmol) der 4-Methylpent-4-ensäureethylester (1.8 g, 12.7 mmol, 77 %) hergestellt.

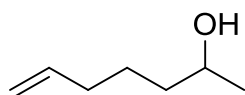
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 4.74 (s, 1 H), 4.69 (s, 1 H), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 2.35 - 2.46 (m, 4 H), 1.74 (s, 3 H), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (16), 69 (100), 96 (18), 97 (18), 142 (10) $[\text{M}]^+$.

5.3.43 Darstellung von 4-Methylpent-4-ensäure (52)

Durch Verseifung des 4-Methylpent-4-ensäureethylesters (1.8 g, 12.7 mmol), nach der unter 5.3.16 beschriebenen Prozedur, konnte 4-Methylpent-4-ensäure (1.15 g, 10.1 mmol, 79 %) erhalten werden.

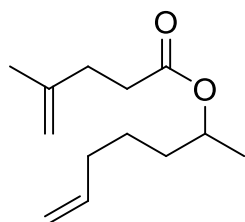
EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (9), 61 (7), 68 (14), 73 (100), 75 (84), 117 (3), 142 (7), 171 (21) (MSTFA-Derivat).

5.3.44 Darstellung von Hept-6-en-2-ol (53)

Analog zu der unter 5.3.8 beschriebenen Vorschrift wurde durch die Kupplung von 4-Brombut-1-en (5 g, 37 mmol) mit Propylenoxid (1.95 g, 33.67 mmol) Hept-6-en-2-ol (3.13 g, 27.4 mmol, 81 %) synthetisiert.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 5.81 (ddt, J = 17.0, 10.3, 6.6 Hz, 1 H), 4.90 - 5.07 (m, 2 H), 3.75 - 3.86 (m, 1 H), 2.01 - 2.13 (m, 2 H), 1.40 - 1.53 (m, 4 H), 1.19 (d, J = 6.1 Hz, 3 H).

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (31), 45 (100), 54 (54), 71 (23), 81 (48), 96 (7), 104 (1), 114 (1) $[\text{M}]^+$.

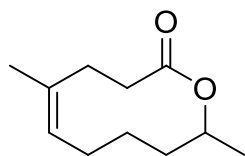
5.3.45 Darstellung von 4-Methylpent-4-ensäurehept-6-en-2-ylester (54)

Die unter 5.3.19 beschriebene Veresterung lieferte, ausgehend von 4-Methylpent-4-ensäure und Hept-6-en-2-ol, den gewünschten 4-Methylpent-4-ensäurehept-6-en-2-ylester (39 mg, 0.18 mmol, 75 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 5.79 (ddt, J = 17.1, 10.3, 6.6 Hz, 1 H), 4.87 - 5.04 (m, 3 H), 4.74 (s, 1 H), 4.69 (s, 1 H), 2.41 - 2.46 (m, 2 H), 2.30 - 2.36 (m, 2 H), 2.02 - 2.09 (q, J = 6.6 Hz, 2 H), 1.74 (s, 3 H), 1.37 - 1.63 (m, 4 H), 1.20 (d, J = 6.1 Hz, 3 H).

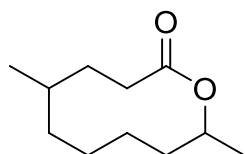
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 172.9, 144.1, 138.4, 114.7, 110.3, 70.7, 35.3, 33.5, 33.0, 32.7, 24.6, 22.5, 20.0.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (100), 55 (97), 69 (69), 81 (29), 97 (45), 101 (9), 114 (25), 137 (2), 195 (1).

5.3.46 Darstellung von (Z)-5,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (55)

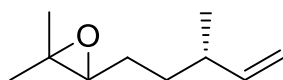
Analog zu der unter 5.3.33 beschriebenen Methode wurde durch Ringschlussmetathese von 4-Methylpent-4-ensäurehept-6-en-2-ylesters (10 mg, 0.048 mmol) (Z)-5,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (7 mg, 0.038 mmol, 80 %) erhalten.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (31), 67 (51), 85 (100), 109 (15), 125 (7), 140 (5), 182 (5) $[M]^+$.

5.3.47 Darstellung von 5,10-Dimethyloxecan-2-on (42)

Aus (Z)-5,10-Dimethyl-3,4,7,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on konnte durch die unter 5.3.12 beschriebene Hydrierung 5,10-Dimethyloxecan-2-on hergestellt werden.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (100), 69 (44), 83 (61), 96 (20), 112 (50), 124 (8), 169 (1), 184 (1) $[M]^+$.

5.3.48 Darstellung von 2,2-Dimethyl-3-((S)-3-methylpent-4-enyl)oxiran (57)

In Anlehnung an die Vorschrift von DODD et al.^[99] wurden (+)-(β)-Citronellen (1 g, 7.2 mmol) und Natriumacetat (0.59 g, 7.2 mmol) in 15 mL DCM vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde *m*CPBA (1.38 g, 8 mmol) portionsweise über einen Zeitraum von 30 min hinzugegeben und anschließend für 2 h gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit TBME verdünnt und mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und 1 M NaOH-Lösung gewaschen. Anschließend wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer

entfernt. Säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 40:1 lieferte das Produkt 2,2-Dimethyl-3-((*S*)-3-methylpent-4-enyl)oxiran (1.01 g, 6.49 mmol, 90 %).

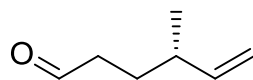
$R_f = 0.4$ (Pentan/TBME 40:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.58 - 5.79$ (m, 1 H), 4.89 - 5.04 (m, 2 H), 2.66 - 2.75 (m, 1 H), 2.07 - 2.27 (m, 1 H), 1.43 - 1.57 (m, 4 H), 1.28 (d, $J = 9.6$ Hz, 6 H), 1.02 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 144.2, 113.0, 64.5, 58.2, 37.7, 33.3, 26.7, 24.9, 20.3, 18.7$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (100), 55 (68), 59 (49), 67 (36), 81 (86), 95 (6), 139 (1), 154 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.49 Darstellung von (*S*)-4-Methylhex-5-enal (58)



Nach der von MORI^[68] beschriebenen Methode wurde 2,2-Dimethyl-3-((*S*)-3-methylpent-4-enyl)oxiran (1 g, 6.49 mmol) in einer Mischung von 40 mL Dioxan und 20 mL H_2O bei Raumtemperatur gelöst. Nach 5 min wurde Natriumperodat (2.4 g, 11.2 mmol) hinzugegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit TBME aufgefüllt, durch Zugabe von H_2O aufgearbeitet und anschließend dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 19:1 gereinigt. Es wurde das Produkt (*S*)-4-Methylhex-5-enal (686 mg, 6.12 mmol, 94 %) erhalten.

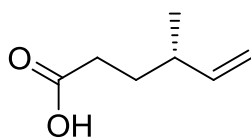
$R_f = 0.4$ (Pentan/TBME 19:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.77$ (t, $J = 1.6$ Hz, 1 H), 5.49 - 5.77 (m, 1 H), 4.86 - 5.11 (m, 2 H), 2.34 - 2.52 (m, 2 H), 2.16 (m, 1 H), 1.44 - 1.79 (m, 2 H), 1.03 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 202.5, 143.3, 113.8, 41.8, 37.4, 26.9, 20.2$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (100), 68 (55), 79 (20), 83 (15), 94 (7), 97 (9).

5.3.50 Darstellung von (*S*)-4-Methylhex-5-ensäure (59)



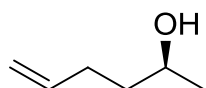
Die Oxidation wurde in Anlehnung an die Methode von COATES et al.^[100] durchgeführt. Zunächst wurde eine Chromsäurelösung nach der Vorschrift von EISENBRAUN^[101] aus Chrom(VI)oxid (0.268 g, 2.68 mmol), 0.232 mL konz. Schwefelsäure (2.3 mmol) und 0.5 mL dest. H₂O hergestellt. Diese wurde langsam zu einer Lösung von (*S*)-4-Methylhex-5-enal (207 mg, 1.84 mmol) in 10 mL Aceton getropft. Die Lösung wurde gerührt, bis die orange Färbung bestehen blieb (10 min). Dann wurden 0.2 mL Ethanol hinzugegeben, sodass die Farbe auf grün umschlug. Danach wurde die Lösung mit H₂O verdünnt und zweimal mit TBME extrahiert. Anschließend wurde die wässrige Phase durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃-Lösung neutralisiert und erneut zweimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Eine säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 5:1 lieferte das Produkt (*S*)-4-Methylhex-5-ensäure (116 mg, 0.91 mmol, 49 %).

$R_f = 0.45$ (Pentan/TBME 5:1).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 10.73 (br. s., 1 H), 5.45 - 5.84 (m, 1 H), 4.81 - 5.14 (m, 2 H), 2.29 - 2.41 (m, 2 H), 2.07 - 2.27 (m, 1 H), 1.51 - 1.78 (m, 2 H), 0.99 - 1.05 (d, J = 6.8 Hz, 3 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 179.9, 143.2, 113.8, 37.4, 31.8, 31.0, 20.1.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (21), 67 (11), 75 (100), 82 (10), 93 (10), 117 (39), 129 (19), 185 (13), 200 (1) [M]⁺. (MSTFA-Derivat)

5.3.51 Darstellung von (S)-Hex-5-en-2-ol (60)

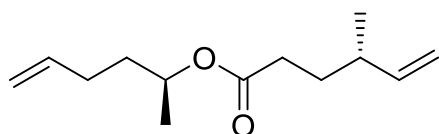
Analog zu der unter 5.3.8 beschriebenen Vorschrift wurde eine Lösung von 20.6 mL Allylmagnesiumbromid (1 M in Hexan, 20.6 mmol) zu einer Lösung von Kupfercyanid (232 mg, 2.58 mmol) in 20 mL abs. THF bei -40 °C getropft. Die Reaktionslösung wurde für 20 min gerührt und anschließend (S)-Propylenoxid (1 g, 17.2 mmol) hinzugegetropft, auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung aufgearbeitet und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt durch eine säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 5:1 gereinigt. Es wurde (S)-Hex-5-en-2-ol (877 mg, 8.77 mmol, 51 %) erhalten.

$R_f = 0.2$ (Pentan/TBME 5:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.69 - 5.96$ (m, 1 H), $4.90 - 5.14$ (m, 2 H), $3.73 - 3.92$ (m, 1 H), $2.06 - 2.24$ (m, 2 H), $1.46 - 1.64$ (m, 2 H), 1.20 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.4, 114.6, 67.6, 38.2, 30.1, 23.4$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (77), 58 (33), 67 (100), 82 (35), 100 (1).

5.3.52 Darstellung von (S)-4-Methylhex-5-ensäure-(S)-hex-5-en-2-ylester (62)

Wie unter 5.3.19 beschrieben wurde eine Lösung von (S)-4-Methylhex-5-ensäure (40 mg, 0.31 mmol), (S)-Hex-5-en-2-ol (36 mg, 0.36 mmol) und DMAP (4 mg, 0.03 mmol) in 10 mL abs. DCM hergestellt und auf 0 °C gekühlt. Dann wurde EDC Hydrochlorid (76 mg, 0.4 mmol) dazugegeben und die Reaktion wurde für 1 h bei 0 °C und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit TBME verdünnt, mit gesättigter NaHCO_3 gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch auf

einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 40:1 gereinigt. Als Produkt wurde der (*S*)-4-Methylhex-5-ensäure-(*S*)-hex-5-en-2-ylester (34 mg, 0.29 mmol, 92 %) erhalten.

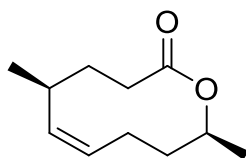
$R_f = 0.6$ (Pentan/TBME 40:1).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.52 - 5.96$ (m, 2 H), 4.81 - 5.12 (m, 5 H), 2.20 - 2.33 (m, 2 H), 1.96 - 2.19 (m, 3 H), 1.45 - 1.80 (m, 4 H), 1.15 - 1.25 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H), 0.97 - 1.04 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): $\delta = 173.4, 143.5, 137.8, 114.9, 113.5, 70.2, 37.5, 35.1, 32.5, 31.5, 29.7, 20.1, 19.9$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (49), 55 (100), 67 (72), 82 (57), 111 (36), 128 (40), 153 (1).

5.3.53 Darstellung von (*5S,10S,Z*)-5,10-Dimethyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (63)



Nach der unter 5.3.33 beschriebenen Vorschrift wurde eine Lösung von (*S*)-4-Methylhex-5-ensäure-(*S*)-hex-5-en-2-ylester (20 mg, 0.095 mmol) und Hexafluorbenzol (1.8 mL, 6 mmol) in 150 mL trockenem Toluol hergestellt. Dann wurde Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator Dichloro[1,3-bis-(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinyliden] (2-isopropoxyphenyl-methylen)ruthenium(II) (12 mg, 0.019 mmol) hinzugefügt und die Reaktionsmischung für 3 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von gesättigter NaHCO_3 -Lösung aufgearbeitet, die organische Phase abgetrennt und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 19:1 durchgeführt. Es wurde (*5S,10S,Z*)-5,10-Dimethyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2H-oxecin-2-on (12 mg, 0.066 mmol, 69 %) erhalten.

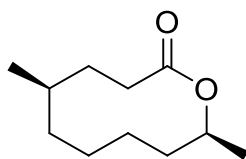
$R_f = 0.55$ (Pentan/TBME 19:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.28 - 5.46$ (m, 1 H), 4.98 - 5.15 (m, 1 H), 4.61 (m, 1 H), 2.16 - 2.25 (m, 2 H), 2.10 - 2.16 (m, 1 H), 1.94 - 2.05 (m, 2 H), 1.46 - 1.58 (m, 4 H), 1.09 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H), 1.01 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 175.8, 132.6, 129.0, 71.1, 34.5, 33.1, 32.5, 32.0, 29.8, 21.7, 15.2$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (31), 67 (51), 85 (100), 109 (15), 125 (7), 140 (5), 182 (5) $[\text{M}]^+$.

5.3.54 Darstellung von (5*R*,10*S*)-5,10-Dimethyloxecan-2-on (42)^[S7]

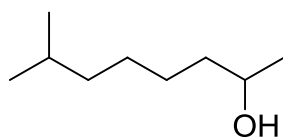


Die Hydrierung wurde analog zu der unter 5.3.12 beschriebenen Methode durchgeführt. Zu einer Lösung von (5*S*,10*S*,*Z*)-5,10-Dimethyl-3,4,5,8,9,10-hexahydro-2*H*-oxecin-2-on (12 mg, 0.066 mmol) in 1 mL abs. Methanol wurden 5 mg 10 % Palladium auf Aktivkohle gegeben. Dann wurde durch die Reaktionslösung für 5 h ein Wasserstoffstrom von 1 bar geleitet. Danach wurde der Katalysator abfiltriert und das Methanol im Heizblock im Stickstoffstrom bei 65 °C verdampft. Reines (5*R*,10*S*)-5,10-Dimethyloxecan-2-on (9 mg, 0.049 mmol, 74 %) wurde als Produkt erhalten.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.88 - 5.00$ (m, 1 H), 2.07 - 2.21 (m, 2 H), 1.77 - 1.96 (m, 2 H), 1.63 - 1.75 (m, 2 H), 1.51 - 1.62 (m, 3 H), 1.25 - 1.43 (m, 4 H), 1.20 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H), 0.81 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 174.3, 72.8, 34.6, 32.5, 31.5, 30.2, 28.1, 23.5, 21.0, 20.7, 19.3$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (100), 69 (44), 83 (61), 96 (20), 112 (50), 124 (8), 169 (1), 184 (1) $[\text{M}]^+$.

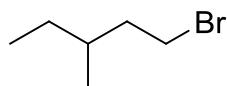
5.3.55 Darstellung von 7-Methyloctan-2-ol (65)

Der Alkohol **65** wurde entsprechend der unter 5.3.8 beschriebenen Vorschrift, durch die Kupplung von 1-Brom-4-methylpentan (250 mg, 1.53 mmol) und Propylenoxid (60 mg, 1.02 mmol) hergestellt. Säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 5:1 lieferte das gewünschte Produkt 7-Methyloctan-2-ol (132 mg, 0.91 mmol, 90 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.77 – 3.82 (m, 1 H), 1.21 – 1.59 (m, 7 H), 1.19 (d, J = 6.2 Hz, 3 H), 1.14 – 1.17 (m, 2 H), 0.86 (s, J = 6.6 Hz, 6 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 68.2, 39.4, 38.9, 27.9, 27.4, 26.0, 23.5, 22.6.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (44), 45 (100), 55 (21), 69 (32), 83 (5), 98 (4), 111 (7), 129 (2), 143 (1).

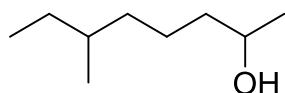
5.3.56 Darstellung von 1-Brom-3-methylpentan (67)

Nach der Methode von RODSTEIN et al.^[102] wurde eine Lösung aus 3-Methylpentanol (2 g, 20 mmol) und zwei Tropfen Pyridin in 25 mL abs. Et_2O auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde über einen Zeitraum von 30 min PBr_3 (2.16 g, 0.75 mmol) hinzuge tropft. Dann wurde für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NaHCO_3 -Lösung aufgearbeitet und dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit dest. H_2O gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Produkt 1-Brom-3-methylpentan (2.63 g, 16.1 mmol, 80 %) erhalten.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.36 - 3.50 (m, 2 H), 1.89 (dtd, J = 13.5, 7.9, 5.4 Hz, 1 H), 1.61 - 1.72 (m, 1 H), 1.51 - 1.61 (m, 1 H), 1.21 - 1.43 (m, 2 H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 3 H), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 39.6, 33.2, 32.1, 28.9, 18.4, 11.1.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (45), 41 (100), 55 (82), 57 (99), 69 (32), 85 (58), 107 (4), 109 (4), 135 (2), 137 (2), 164 (2), 166 (2) $[\text{M}]^+$.

5.3.57 Darstellung von 6-Methyloctan-2-ol (68)

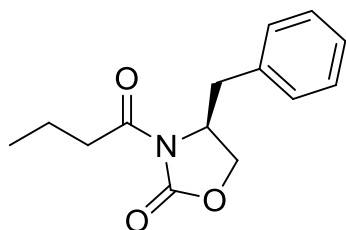
Analog zu der unter 5.3.8 beschriebenen Vorschrift konnte aus 1-Brom-3-methylpentan (500 mg, 3.05 mmol) und Propylenoxid (177 mg, 3.05 mmol) der Alkohol **68** hergestellt werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 wurde 6-Methyloctan-2-ol (280 mg, 1.94 mmol, 64 %) erhalten.

$R_f = 0.6$ (Pentan/TBME 2:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.79$ (sxt, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 1.8 (s, br., 1 H), 1.28 - 1.51 (m, 7 H), 1.17 - 1.21 (d, $J = 6.0$ Hz, 3 H), 1.06 - 1.16 (m, 2 H), 0.86 (t, $J = 7.6$ Hz, 3 H), 0.85 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H).

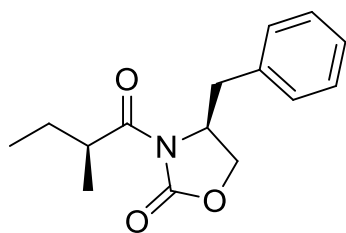
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 68.0, 39.6, 36.5, 34.3, 29.4, 23.4, 23.2, 19.1, 11.3$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (11), 41 (34), 45 (100), 55 (44), 57 (24), 69 (42), 83 (9), 97 (24), 111 (5), 129 (3).

5.3.58 Darstellung von (S)-4-Benzyl-3-butyryloxazolidin-2-on

Analog zur Vorschrift 5.3.25 wurde aus Buttersäurechlorid (4.58 g, 43 mmol) und (S)-4-Benzyl-3-butyryloxazolidin-2-on (5 g, 39 mmol) (S)-4-Benzyl-3-butyryloxazolidin-2-on (8.86 g, 35.9 mmol, 92 %) synthetisiert.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (46), 65 (10), 71 (100), 91 (23), 117 (7), 156 (14), 247 (8) $[\text{M}]^+$.

5.3.59 Darstellung von (S)-4-Benzyl-3-((S)-2-methylbutanoyl)oxazolidin-2-on (71)

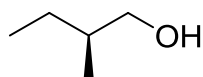
Entsprechend der unter 5.3.26 beschriebenen Vorschrift wurde (S)-4-Benzyl-3-butyryloxazolidin-2-on (5.9 g, 24 mmol) mit NaHMDS/MeI methyliert. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 5:1 wurde das Produkt **71** (5.54 g, 21 mmol, 89 %) erhalten.

$R_f = 0.2$ (Pentan/TBME 5:1).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.19 - 7.36$ (m, 5 H), 4.64 - 4.71 (m, 1 H), 4.15 - 4.23 (m, 2 H), 3.30 (dd, $J = 13.3, 3.3$ Hz, 1 H), 2.84 - 3.01 (m, 1 H), 2.77 (dd, $J = 13.3, 9.5$ Hz, 1 H), 1.65 - 1.79 (m, 2 H), 1.07 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 173.2, 153.5, 135.3, 129.4, 128.9, 127.3, 66.1, 55.1, 37.9, 37.4, 17.7, 13.7$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (32), 57 (99), 65 (15), 85 (100), 91 (39), 117 (16), 170 (19), 178 (7), 261 (9) $[\text{M}]^+$.

5.3.60 Darstellung von (S)-2-Methylbutan-1-ol

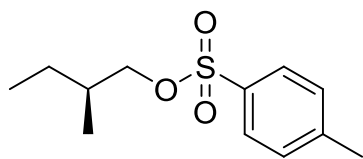
Analog der unter 5.3.17 beschriebenen Reduktion wurde (S)-4-Benzyl-3-((S)-2-methylbutanoyl)oxazolidin-2-on (5.5 g, 21 mmol) mit LAH reduziert. Die anschließende säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 lieferte (S)-2-Methylbutan-1-ol (0.95 g, 10.8 mmol, 51 %).

$R_f = 0.1$ (Pentan/TBME 2:1).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.41 - 3.57$ (m, 2 H), 1.40 - 1.58 (m, 2 H), 1.09 - 1.17 (m, 1 H), 0.92 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H), 0.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 68.1, 37.4, 25.7, 16.1, 11.3$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (36), 41 (100), 56 (76), 57 (73), 70 (33), 88 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.61 Darstellung von 4-Methylbenzolsulfonsäure-(S)-2-methylbutylester (72)

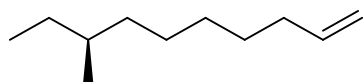
Der 4-Methylbenzolsulfonsäure-(S)-2-methylbutylester wurde, entsprechend der unter 5.3.1 beschriebenen Vorschrift, aus (S)-2-Methylbutanol (10 g, 114 mmol) und *p*-Tosylchlorid (32.6 g, 171 mmol) hergestellt. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 9:1 wurde das Produkt **72** (28.7 g, 108 mmol, 95 %) erhalten.

$R_f = 0.45$ (Pentan/TBME 9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.76 - 7.81$ (m, 2 H), $7.32 - 7.37$ (m, 2 H), $3.79 - 3.91$ (m, 2 H), 2.45 (s, 3 H), $1.64 - 1.77$ (m, 1 H), $1.33 - 1.45$ (m, 1 H), $1.08 - 1.19$ (m, 1 H), 0.88 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H), 0.83 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 144.6, 133.2, 129.8, 127.9, 74.8, 34.3, 25.4, 21.6, 15.9, 10.9$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (29), 55 (25), 65 (38), 70 (100), 91 (90), 107 (7), 155 (70), 173 (24).

5.3.62 Darstellung von (S)-8-Methyldec-1-en (73)

Analog der unter 5.3.2 beschriebenen Vorschrift wurde zunächst aus 1-Bromhexen (0.97 g, 6 mmol) die entsprechend Grignard-Verbindung hergestellt und dann mit dem 4-Methylbenzolsulfonsäure-(S)-2-methylbutylester (0.71 g, 3.15 mmol) gekuppelt. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 40:1 wurde (S)-8-Methyldec-1-en (0.255 g, 1.65 mmol, 53 %) erhalten.

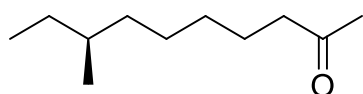
$R_f = 0.9$ (Pentan/TBME 40:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.82$ (ddt, $J = 17.0, 10.3, 6.7$ Hz, 1 H), 4.99 (d, $J = 16.9$ Hz, 1 H), 4.93 (d, $J = 10.2$ Hz, 1 H), 2.00 - 2.09 (m, 2 H), 1.44 - 1.62 (m, 2 H), 1.20 - 1.41 (m, 7 H), 0.99 - 1.16 (m, 2 H), 0.85 - 0.85 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 0.84 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 139.3, 114.1, 40.5, 35.7, 34.6, 33.6, 32.7, 29.5, 25.2, 19.3, 11.4$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (100), 55 (68), 69 (95), 83 (48), 97 (10), 125 (24), 154 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.63 Darstellung von (S)-8-Methyldecan-2-on (74)



Die Wacker-Oxidation von (S)-8-Methyldec-1-en wurde, wie unter 5.3.3 beschrieben, durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 9:1 konnte (S)-8-Methyldecan-2-on (1.59 g, 9.3 mmol, 85 %) isoliert werden.

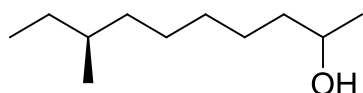
$R_f = 0.4$ (Pentan/TBME 9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.42$ (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 2.13 - 2.14 (m, 3 H), 1.53 - 1.62 (m, 2 H), 1.23 - 1.34 (m, 7 H), 1.03 - 1.15 (m, 2 H), 0.85 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), 0.83 (t, $J = 6.3$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 209.4, 43.8, 36.4, 34.3, 29.8, 29.5, 29.5, 26.9, 23.9, 19.2, 11.4$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (36), 43 (100), 55 (19), 58 (69), 71 (29), 82 (9), 95 (6), 123 (5), 141 (2), 170 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.64 Darstellung von (S)-8-Methyldecan-2-ol (2SR,8S-69)



Analog zu der unter 5.3.4 beschriebenen Vorschrift wurde (S)-8-Methyldecan-2-on (162 mg, 0.96 mmol) mit LAH zu (S)-8-Methyldecan-2-ol (145 mg, 0.84 mmol, 88 %) reduziert.

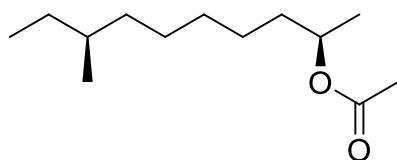
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.79 (sxt, J = 6.0 Hz, 1 H), 1.34 - 1.51 (m, 3 H), 1.24 - 1.34 (m, 9 H), 1.19 (d, J = 6.1 Hz, 3 H), 1.06 - 1.16 (m, 1 H), 0.85 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 0.84 (t, J = 6.3 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 68.2, 39.4, 36.6, 34.4, 30.0, 29.5, 27.1, 25.8, 23.5, 19.2, 11.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (53), 45 (100), 55 (38), 70 (27), 83 (22), 97 (9), 125 (10), 157 (1).

$[\alpha]_{\text{D}} = +7.43$ (22 °C, c = 0.33 mol/L, DCM).

5.3.65 Darstellung von Essigsäure-(2*R*,8*S*)-8-methyldecan-2-ylester (75)



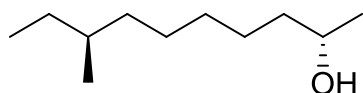
Die enzymatische Racemantspaltung wurde nach der Methode von PATEL et al.^[69] durchgeführt. Es wurden (*S*)-8-Methyldecan-2-ol (56 mg, 0.33 mmol) und Essigsäurevinylester (250 mg, 2.9 mmol) in 2 mL abs. Hexan gelöst. Dazu wurde *Candida antarctica* Lipase (45 mg, Novozym 435, fixiert auf Acrylkügelchen) hinzugegeben und die Reaktionsmischung bei 35 °C für 12 h gerührt. Dann wurde die Reaktion durch Abfiltrieren des Enzyms gestoppt und das Rohprodukt säulenchromatographisch auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 9:1 aufgereinigt. Es konnte der Essigsäure-(2*R*,8*S*)-8-methyldecan-2-ylester (51 mg, 0.24 mmol, 73 %) und der unreaktierte Alkohol (2*S*,8*S*)-8-Methyldecan-2-ol (15 mg, 0.09 mmol, 27 %) erhalten werden.

R_f = 0.75 (Pentan/TBME 9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.77 - 4.86 (m, 1 H), 1.95 (s, 3 H), 1.46 - 1.57 (m, 1 H), 1.34 - 1.45 (m, 1 H), 1.16 - 1.32 (m, 9 H), 1.13 (d, J = 6.3 Hz, 3 H), 0.96 - 1.10 (m, 2 H), 0.78 (t, J = 7.3 Hz, 3 H), 0.77 (t, J = 6.3 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 170.8, 71.1, 36.5, 35.9, 34.4, 29.8, 29.5, 27.0, 25.4, 21.4, 19.9, 19.2, 11.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (33), 43 (100), 55 (27), 57 (19), 70 (31), 83 (17), 87 (14), 97 (5), 112 (1), 125 (15), 154 (1), 171 (1).

5.3.66 Darstellung von (2*S*,8*S*)-8-Methyldecan-2-ol (2*S*,8*S*-69)

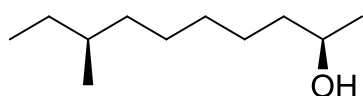
(2*S*,8*S*)-8-Methyldecan-2-ol wurde aus der enzymatischen Racematspaltung 5.3.65 gewonnen.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.79 (sxt, J = 6.0 Hz, 1 H), 1.34 - 1.51 (m, 3 H), 1.24 - 1.34 (m, 9 H), 1.19 (d, J = 6.1 Hz, 3 H), 1.06 - 1.16 (m, 1 H), 0.85 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 0.84 (t, J = 6.3 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 68.2, 39.4, 36.6, 34.4, 30.0, 29.5, 27.1, 25.8, 23.5, 19.2, 11.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (38), 43 (24), 45 (100), 55 (31), 57 (34), 69 (21), 83 (18), 97 (7), 125 (9), 157 (1).

ee = 80 % (GC).

5.3.67 Darstellung von (2*R*,8*S*)-8-Methyldecan-2-ol (2*R*,8*S*-69)

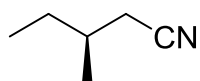
Entsprechend der unter 5.3.6 beschriebenen Vorschrift wurde durch Verseifung von Essigsäure-(2*R*,8*S*)-8-methyldecan-2-ylester (51 mg, 0.24 mmol) der gewünschte Alkohol (**2*R*,8*S*-69**) (27 mg, 0.16 mmol, 66 %) gewonnen.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.79 (sxt, J = 6.0 Hz, 1 H), 1.34 - 1.51 (m, 3 H), 1.24 - 1.34 (m, 9 H), 1.19 (d, J = 6.1 Hz, 3 H), 1.06 - 1.16 (m, 1 H), 0.85 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 0.84 (t, J = 6.3 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 68.2, 39.4, 36.6, 34.4, 30.0, 29.5, 27.1, 25.8, 23.5, 19.2, 11.4.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (29), 41 (61), 43 (32), 45 (100), 55 (29), 57 (30), 69 (12), 83 (9), 97 (4), 125 (5), 157 (1).

ee = mind. 99 % (GC).

5.3.68 Darstellung von (S)-3-Methylpentannitril (76)

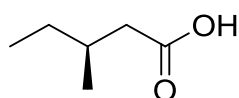
Wie von NAKAMURA et al.^[70] beschrieben wurde zu einer Lösung von 4-Methylbenzolsulfonsäure-(S)-2-methylbutylester (5 g, 22 mmol) in 25 mL DMSO Natriumcyanid (2.17 g, 44 mmol) hinzugeben. Die Lösung wurde anschließen für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde durch Zugabe von dest. H₂O aufgearbeitet und die wässrige Phase dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden dann mit dest. H₂O und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Eine säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 9:1 lieferte (S)-3-Methylpentannitril (0.85 g, 8.8 mmol, 40 %).

R_f = 0.1 (Pentan/TBME 9:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.06 (dd, *J* = 14.3, 4.8 Hz, 1 H), 2.90 (dd, *J* = 14.1, 7.8 Hz, 1 H), 1.96 - 2.05 (m, 1 H), 1.41 - 1.51 (m, 2 H), 1.05 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H), 0.84 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 116.2, 49.4, 27.0, 23.6, 19.1, 15.9.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 39 (50), 41 (94), 54 (19), 57 (100), 68 (9), 78 (2), 82 (4).

5.3.69 Darstellung von (S)-3-Methylpentansäure (77)

Entsprechend der von NAKAMURA et al.^[70] beschriebenen Methode wurde (S)-3-Methylpentannitril (1.36 g, 14 mmol) und 18 mL konz. H₂SO₄ in 23 mL H₂O gelöst und für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Dann wurde die Reaktionslösung mit H₂O verdünnt und dreimal mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach säulenchromatographischer Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 wurde (S)-3-Methylpentansäure (1.45 g, 12.5 mmol, 89 %) erhalten.

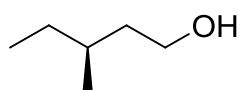
$R_f = 0.35$ (Pentan/TBME 2:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.36$ (dd, $J = 15.0, 5.9$ Hz, 1 H), 2.15 (dd, $J = 15.0, 8.2$ Hz, 1 H), 1.90 (dq, $J = 13.5, 6.9$ Hz, 1 H), 1.34 - 1.44 (m, 1 H), 1.19 - 1.31 (m, 1 H), 0.97 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H), 0.91 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 179.2, 41.1, 31.7, 29.3, 19.2, 11.2$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (100), 41 (96), 45 (67), 55 (32), 60 (41), 69 (13), 87 (20), 101 (2).

5.3.70 Darstellung von (*S*)-3-Methylpentan-1-ol (78)



Durch Reduktion von (*S*)-3-Methylpentansäure (1.45 g, 12.5 mmol) mit LAH konnte, wie unter 5.3.4 beschrieben, das Produkt (*S*)-3-Methylpentan-1-ol (0.63 g, 6.17 mmol, 49 %) erhalten werden. Die säulenchromatographische Reinigung wurde mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 5:1 durchgeführt.

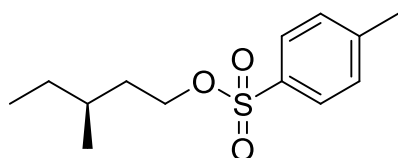
$R_f = 0.3$ (Pentan/TBME 5:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.63 - 3.74$ (m, 2 H), 1.56 - 1.67 (m, 1 H), 1.44 - 1.54 (m, 1 H), 1.31 - 1.42 (m, 2 H), 1.11 - 1.28 (m, 1 H), 0.89 (d, $J = 7$ Hz, 3 H), 0.88 (t, $J = 7.6$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 61.3, 39.5, 31.1, 29.6, 19.1, 11.3$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (81), 41 (100), 51 (12), 55 (54), 56 (56), 69 (54), 84 (7).

5.3.71 Darstellung von 4-Methylbenzolsulfonsäure-(*S*)-3-methylpentylester



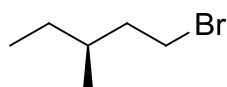
Wie unter 5.3.1 beschrieben wurde aus (*S*)-3-Methylpentan-1-ol (0.63 g, 0.62 mmol) der 4-Methylbenzolsulfonsäure-(*S*)-3-methylpentylester (1.42 g, 5.58 mmol, 90 %) hergestellt.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7.77 - 7.81 (m, 2 H), 7.33 - 7.37 (m, 2 H), 4.03 - 4.11 (m, 2 H), 2.45 (s, 3 H), 1.63 - 1.73 (m, 1 H), 1.37 - 1.49 (m, 2 H), 1.21 - 1.32 (m, 1 H), 1.05 - 1.16 (m, 1 H), 0.82 (t, J = 7.6 Hz, 3 H), 0.8 (d, J = 6.3 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 144.6, 133.2, 129.8, 127.8, 69.1, 35.2, 30.7, 29.1, 21.6, 18.6, 11.0.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (24), 41 (38), 43 (21), 55 (31), 65 (38), 69 (56), 77 (6), 84 (100), 91 (83), 107 (8), 155 (32), 173 (36).

5.3.72 Darstellung von (S)-1-Brom-3-methylpentan (79)



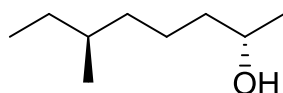
Nach der Methode von NAKAMURA et al.^[70] wurde der 4-Methylbenzolsulfonsäure-(S)-3-methylpentylester (1.2 g, 4.68 mmol) in 5 mL abs. DMF vorgelegt. Zu dieser Lösung wurde LiBr (0.61 g, 7 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 12 h gerührt. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von H_2O aufgearbeitet, mit TBME verdünnt und dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit dem Säulenchromatographiesystem lieferte das gewünschte Produkt (S)-1-Brom-3-methylpentan (0.886 g, 1.83 mmol, 39 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.36 - 3.50 (m, 2 H), 1.89 (dtd, J = 13.5, 7.9, 5.4 Hz, 1 H), 1.61 - 1.72 (m, 1 H), 1.51 - 1.61 (m, 1 H), 1.21 - 1.43 (m, 2 H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 3 H), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 39.6, 33.2, 32.1, 28.9, 18.4, 11.1.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (45), 41 (100), 55 (82), 57 (99), 69 (32), 85 (58), 107 (4), 109 (4), 135 (2), 137 (2), 164 (2), 166 (2) $[\text{M}]^+$.

$[\alpha]_{\text{D}} = +14.35$ (21.4 °C, c = 0.31 mol/L, DCM) (Lit. = +5.3)^[103].

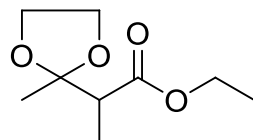
5.3.73 Darstellung von (2*S*,6*S*)-6-Methyloctan-2-ol (2*S*,8*S*-68)

Durch die Kupplung von (*S*)-1-Brom-3-methylpentan mit (*S*)-Propylenoxid konnte, wie unter 5.3.8 beschrieben, (2*S*,6*S*)-6-Methyloctan-2-ol hergestellt werden.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.79 (sxt, J = 6.0 Hz, 1 H), 1.8 (s, br., 1 H), 1.28 - 1.51 (m, 7 H), 1.17 - 1.21 (d, J = 6.0 Hz, 3 H), 1.06 - 1.16 (m, 2 H), 0.86 (t, J = 7.6 Hz, 3 H), 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 68.0, 39.6, 36.5, 34.3, 29.4, 23.4, 23.2, 19.1, 11.3.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 39 (11), 41 (34), 45 (100), 55 (44), 57 (24), 69 (42), 83 (9), 97 (24), 111 (5), 129 (3).

5.3.74 Darstellung von 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propansäureethylester (82)

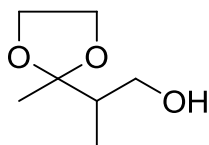
Nach der Methode von KUWANO et al.^[104] wurden 2-Methyl-3-oxobutansäureethylester (16.18 g, 112 mmol), *p*-Toluolsulfonsäure (0.37 g, 2.2 mmol) und Ethylenglykol (13.48 g, 224 mmol) in 50 mL Toluol gelöst. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasserabscheider für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde durch Zugabe von gesättigter NaHCO_3 -Lösung aufgearbeitet und die wässrige Phase dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 lieferte den gewünschten 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propansäureethylester (19.16 g, 102 mmol, 91 %).

R_f = 0.33 (Pentan/TBME 2:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.12 - 4.19 (m, 2 H), 3.90 - 4.02 (m, 4 H), 2.76 (q, J = 7.1 Hz, 1 H), 1.41 (s, 3 H), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3 H), 1.22 (d, J = 7.1 Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 173.2, 109.8, 64.8, 60.3, 47.9, 21.3, 14.1, 12.8.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (55), 55 (9), 87 (100), 99 (6), 117 (5), 143 (2), 173 (10).

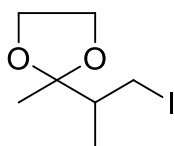
5.3.75 Darstellung von 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propan-1-ol (83)

In Anlehnung an die von COLOBERT et al.^[105] beschriebene Methode wurde zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension von LAH (5.8 g, 150 mmol) in 80 mL abs. Et₂O 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propansäureethylester (19.1 g, 102 mmol) in 40 mL abs. Et₂O zugetropft. Dann wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde erneut auf 0 °C gekühlt und dann durch langsame Zugabe von H₂O hydrolysiert. Der Niederschlag wurde mit konz. H₂SO₄ gelöst, die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde reines 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propan-1-ol (14.1 g, 97 mmol, 95 %) erhalten.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 3.98 (s, 4 H), 3.43 - 3.76 (m, 1 H), 3.16 (dd, *J* = 7.2, 3.4 Hz, 1 H), 2.43 (s, br., 1 H), 1.87 - 2.10 (m, 1 H), 1.29 (s, 3 H), 0.97 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 112.4, 64.8, 64.4, 64.2, 42.7, 20.2, 12.4.

EI-MS (70 eV): *m/z* (%) = 43 (91), 55 (13), 87 (100), 101 (9), 113 (17), 131 (20).

5.3.76 Darstellung von 2-(1-Iodopropan-2-yl)-2-methyl-1,3-dioxolan (84)

Nach der Methode von SHIN et al.^[106] wurde eine Lösung von 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)propan-1-ol (8.5 g, 58 mmol), Triphenylphosphin (19.75 g, 75 mmol) und Imidazol (5.1 g, 75 mmol) in 100 mL DCM hergestellt und auf 0 °C gekühlt. Dann wurde Iod (9.52 g, 75 mmol) hinzugegeben, auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde mit 100 mL Pentan verdünnt, abfiltriert und der Filterkuchen mit Pentan gewaschen. Danach wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in Pentan aufgenommen und erneut abfiltriert. Nach erneutem Waschen des Filterkuchens wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von

Pentan/TBME 19:1 gereinigt. Es wurde 2-(1-Iodopropan-2-yl)-2-methyl-1,3-dioxolan (6.08 g, 24 mmol, 41 %) erhalten.

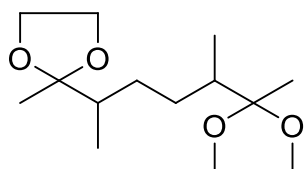
$R_f = 0.2$ (Pentan/TBME 19:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.86 - 4.01$ (m, 4 H), 3.55 (d, $J = 9.5$ Hz, 1 H), 2.83 - 2.94 (m, 1 H), 2.04 (dt, $J = 10.4, 6.9, 3.4$ Hz, 1 H), 1.26 (d, $J = 3.5$ Hz, 3 H), 1.15 (dd, $J = 6.9, 3.1$ Hz, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 110.7, 64.7, 64.7, 45.2, 20.6, 16.0, 9.4$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 69 (5), 87 (100), 99 (5), 127 (8), 241 (3).

5.3.77 Darstellung von 2,2'-(Hexan-2,5-diyl)bis(2-methyl-1,3-dioxolan) (**85**)



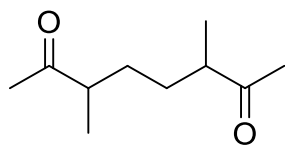
Die Kupplung von **84** zum entsprechenden Dimer **85** wurde nach der Methode von HAN et al.^[107] durch Ultraschall unterstützt. Es wurde 2-(1-Iodopropan-2-yl)-2-methyl-1,3-dioxolan (6 g, 23.7 mmol) in 30 mL THF gelöst. Dazu wurde Lithium (500 mg, 71 mmol) gegeben und die Reaktionslösung für 1.5 h im Ultraschallbad bestrahlt. Dann wurde abfiltriert, das Filtrat durch Zugabe von H_2O aufgearbeitet und anschließend dreimal mit TBME extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO_4 und dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 9:1 durchgeführt. Es wurde das Produkt 2,2'-(Hexan-2,5-diyl)bis(2-methyl-1,3-dioxolan) (1.67 g, 6.5 mmol, 55 %) erhalten.

$R_f = 0.2$ (Pentan/TBME 9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.84 - 3.99$ (m, 8 H), 1.71 - 1.79 (m, 2 H), 1.49 - 1.66 (m, 2 H), 1.22 (s, 6 H), 1.11 - 1.20 (m, 2 H), 0.94 (d, $J = 6.8$ Hz, 6 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 112.4, 64.5, 41.4, 29.4, 20.1, 14.2$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (47), 55 (7), 87 (100), 99 (7), 113 (5), 181 (3), 243 (2).

5.3.78 Darstellung von 3,6-Dimethyloctan-2,7-dion (86)

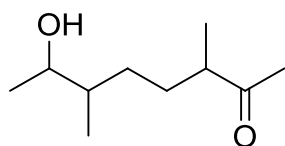
Das Entfernen der Dioxolanschutzgruppen erfolgte in Anlehnung an die von SNIDER et al.^[108] beschriebene Prozedur. Eine Lösung von 2,2'-(Hexan-2,5-diyl)bis(2-methyl-1,3-dioxolan) (1.67 g, 6.5 mmol) und 1 M HCl-Lösung (15 mL, 15 mmol) in 30 mL Aceton wurde bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Dann wurde die Lösung durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃-Lösung neutralisiert und dreimal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 lieferte das gewünschte Produkt 3,6-Dimethyloctan-2,7-dion (890 mg, 5.23 mmol, 81 %).

$R_f = 0.45$ (Pentan/TBME 2:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 2.44 - 2.54$ (m, 2 H), 2.15 (m, 6 H), 1.54 - 1.67 (m, 2 H), 1.23 - 1.38 (m, 2 H), 1.09 (dd, $J = 6.8, 0.8$ Hz, 6 H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 212.2, 47.1, 30.2, 28.1, 16.4$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (100), 55 (10), 72 (20), 85 (11), 98 (8), 128 (3), 170 (1) [M]⁺.

5.3.79 Darstellung von 7-Hydroxy-3,6-dimethyloctan-2-on (80)

Die partielle Reduktion wurde entsprechend der unter 5.3.37 beschriebenen Vorschrift durchgeführt. Zu einer Lösung von 3,6-Dimethyloctan-2,7-dion (890 mg, 5.23 mmol) in 20 mL Et₂O wurde über einen Zeitraum von 30 min Lithiumaluminiumhydrid (80 mg, 2.11 mmol) hinzugegeben. Nach der Zugabe wurde der Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie überprüft und die Reaktion nach 30 min auf 0 °C gekühlt und durch Zugabe von H₂O aufgearbeitet. Dann wurde der Niederschlag mit 1 M HCl-Lösung gelöst und die wässrige Phase dreimal mit TBME extrahiert und über MgSO₄ getrocknet. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem

Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 wurde 7-Hydroxy-3,6-dimethyloctan-2-on (144 mg, 0.84 mmol, 16 %) erhalten.

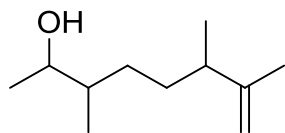
$R_f = 0.22$ (Pentan/TBME 2:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.60 - 3.78$ (m, 1 H), 2.49 (qd, $J = 6.7, 4.0$ Hz, 1 H), 2.12 (s, 3 H), 1.37 - 1.51 (m, 3 H), 1.07 - 1.18 (m, 8 H), 0.85 - 0.98 (m, 3 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 212.8, 71.5, 47.4, 39.7, 30.4, 30.1, 28.0, 19.6, 16.5, 14.7$.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 43 (100), 55 (27), 72 (50), 85 (46), 111 (3), 128 (6), 139 (2), 172 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.80 Darstellung von 3,6,7-Trimethyloct-7-en-2-ol (87)



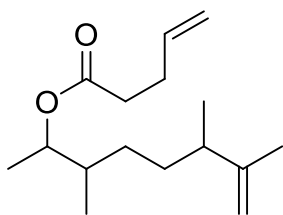
Nach der von TORI et al.^[109] beschriebenen Methode wurde 7-Hydroxy-3,6-dimethyloctan-2-on (43 mg, 0.25 mmol) in 10 mL abs. THF gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Zu dieser Lösung wurde eine Lösung vom Tebbe-Reagenz Bis(cyclopentadienyl)- μ -chloro-(dimethylaluminium)- μ -methylen-titan (0.5 M in Toluol, 0.55 mL, 0.28 mmol) langsam zugetropft und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von 1 M NaOH-Lösung aufgearbeitet und die wässrige Phase viermal mit TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Eine säulenchromatographische Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 2:1 lieferte das gewünschte Produkt 3,6,7-Trimethyloct-7-en-2-ol (20 mg, 0.12 mmol, 47 %).

$R_f = 0.6$ (Pentan/TBME 2:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.66 - 4.69$ (m, 2 H), 3.61 - 3.72 (m, 1 H), 2.07 - 2.17 (m, 1 H), 1.63 - 1.67 (m, 3 H), 1.21 - 1.44 (m, 3 H), 1.10 - 1.16 (m, 2 H), 1.01 (dd, $J = 6.8, 1.3$ Hz, 3 H), 0.84 - 0.91 (m, 6 H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 149.9, 109.5, 71.5, 41.4, 40.2, 34.1, 32.4, 19.9, 19.5, 18.6, 14.0$.

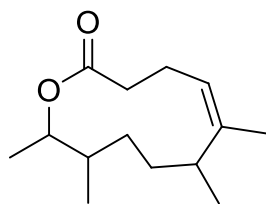
EI-MS (70 eV): m/z (%) = 55 (86), 70 (100), 82 (42), 96 (21), 109 (15), 123 (9), 137 (6), 170 (1) $[\text{M}]^+$.

5.3.81 Darstellung von Pent-4-ensäure-3,6,7-trimethyloct-7-en-2-ylester (88)

Die Veresterung wurde entsprechend der unter 5.3.19 beschriebenen Vorschrift durchgeführt. Dazu wurden 4-Pentensäure (14 mg, 0.14 mmol), 3,6,7-Trimethyloct-7-en-2-ol (20 mg, 0.12 mmol) und DMAP (3 mg, 0.023 mmol) in 3 mL abs. DCM gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurde EDC Hydrochlorid (25 mg, 0.16 mmol) dazugegeben und die Reaktion wurde für 1 h bei 0 °C und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit TBME verdünnt, mit gesättigter NaHCO₃ gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und säulenchromatographischer Reinigung des Rohprodukts auf einer Kieselgelsäule mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 40:1 wurde der reine Pent-4-ensäure-3,6,7-trimethyloct-7-en-2-ylester (17 mg, 0.067 mmol, 56 %) erhalten.

$R_f = 0.3$ (Pentan/TBME 40:1).

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (57), 55 (100), 69 (29), 83 (62), 96 (20), 109 (9), 123 (13), 137 (6), 152 (5), 252 (1) [M]⁺.

5.3.82 Darstellung von (Z)-6,7,10,11-Tetramethyloxacycloundec-5-en-2-on (89)

Analog zu der unter 5.3.33 beschriebenen Methode wurden Pent-4-ensäure-3,6,7-trimethyloct-7-en-2-ylester (10 mg, 0.039 mmol) und Hexafluorbenzol (0.7 mL, 6.1 mmol) in 60 mL abs. Toluol gelöst. Dann wurde der Stewart-Grubbs-II-Katalysator Dichloro[1,3-bis(2-methylphenyl)-2-imidazolidinyliden](2-isopropoxyphenylmethyl)ruthenium(II) (4.7 mg, 0.0059 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung für 5 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von gesättigter NaHCO_3 aufgearbeitet, die Phasen getrennt und die organische Phase über MgSO_4 getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde eine säulenchromatographische Reinigung auf Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Pentan/TBME 19:1 durchgeführt und ein Gemisch der (*E*)- und (*Z*)-Isomere des 6,7,10,11-Tetramethyloxacycloundec-5-en-2-on (8 mg, 0.035 mmol, 91 %) erhalten.

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 41 (100), 55 (60), 67 (62), 81 (37), 95 (32), 109 (7), 123 (11), 141 (9), 195 (7), 224 (4) $[\text{M}]^+$.

6 LITERATUR

- [1] T. D. Wyatt, *Pheromones and Animal Behaviour*, Cambridge Press, **2003**.
- [2] R. H. Law, F. E. Regnier, *Annual Review of Biochemistry*, **1971**, *40*, 533-548.
- [3] P. Karlson, M. Lüscher, *Nature*, **1959**, *183*, 155-156.
- [4] W. Francke, S. Schulz, *Pheromones in: Comprehensive Natural Products Chemistry*, Vol. 8 (Eds. K. Mori, D. Barton, K. Nakanishi, O. Meth-Cohn), Elsevier, Amsterdam, **1999**, pp 198-261.
- [5] S. Yildizhan, J. A. van Loon, A. Sramkova, M. Ayasse, C. Arsene, C. ten Broeke, S. Schulz, *ChemBioChem.*, **2009**, *10*, 1666-1676.
- [6] E. Jerhot, J. A. Stoltz, M. C. Andrade, S. Schulz, *Angew. Chem.*, **2010**, *122*, 2077-2080.
- [7] S. Franke, F. Ibarra, C. M. Schulz, R. Twele, J. Poldy, R. A. Barrow, R. Peakall, F. P. Schiestl, W. Francke, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2009**, *106*, 8877-8882.
- [8] V. Thiel, B. Kunze, P. Verma, I. Wagner-Döbler, S. Schulz, *ChemBioChem*, **2009**, *10*, 1861-1868.
- [9] T. R. Hoyer, V. Dvornikovs, J. M. Fine, K. R. Anderson, C. S. Jeffrey, D. C. Muddiman, F. Shao, P. W. Sorensen, J. Wang, *J. Org. Chem*, **2007**, *72*, 7544-7550.
- [10] S. Schulz, *Nachrichten aus der Chemie*, **2011**, *59*, 704-709.
- [11] L. D. Houck, *Ann. Rev. Physiol.*, **2009**, *71*, 161-176.
- [12] S. K. Woodley, *J. Comp. Physiol. A*, **2010**, *196*, 713-727.
- [13] R. M. Belanger, L. D. Corkum, *J. Herpetol.*, **2009**, *43*, 184-191.
- [14] A. W. Perriman, M. A. Apponyi, M. A. Buntine, J. R. Jackway, M. W. Rutland, J. W. White, J. H. Bowie, *FEBS J.*, **2008**, *275*, 3362-3374.
- [15] P. A. Wabnitz, J. H. Bowie, M. J. Tyler, J. C. Wallace, B. P. Smith, *Eur. J. Biochem.*, **2000**, *267*, 269-275.
- [16] S. Kikuyama, K. Yamamoto, T. Iwata, F. Toyoda, *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, **2002**, *132*, 69-74.
- [17] R. A. Watts, C. A. Palmer, R. C. Feldhoff, P. W. Feldhoff, L. D. Houck, A. G. Jones, M. E. Pfrender, S. M. Rollmann, S. J. Arnold, *Mol. Biol. Evol.*, **2004**, *21*, 1032-1041.
- [18] C. A. Palmer, R. A. Watts, R. G. Gregg, M. A. McCall, L. D. Houck, R. Highton, S. J. Arnold, *Mol. Biol. Evol.*, **2005**, *22*, 2243-2256.
- [19] J. Eom, Y. R. Jung, D. Park, *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integrat. Physiol.*, **2009**, *154*, 61-69.

- [20] S. Kikuyama, F. Toyoda, T. Ohmiya, K. Matsuda, S. Tanaka, H. Hayashi, *Science*, **1995**, 267, 1643-1645.
- [21] K. Yamamoto, Y. Kawai, T. Hayashi, Y. Ohe, H. Hayashi, F. Toyoda, G. Kawahara, T. Iwata, S. Kikuyama, *FEBS Lett.*, **2000**, 472, 267-270.
- [22] B. Waldman, P. J. Bishop, *Behav. Ecol.*, **2004**, 15, 88-93.
- [23] P. G. Byrne, J. S. Keogh, *Anim. Behav.*, **2007**, 74, 1155-1162.
- [24] F. Glaw, M. Vences, *A field guide to the amphibians and reptiles of Madagascar*, Third Edition, Vences & Glaw Verlag, Köln, **2007**.
- [25] W. E. Duellman, L. Trueb, *Biology of Amphibians*, Mc Graw-Hill, New York, **1986**.
- [26] F. Glaw, M. Vences, *Organisms, Diversity & Evolution*, **2006**, 6, 236-253.
- [27] M. Gleich, D. Maxeiner, M. Miersch, F. Nicolay, *Life counts – Eine globale Bilanz des Lebens*, Berlin Verlag, **2000**.
- [28] F. Glaw, M. Vences, V. Gossmann, *J. Nat. Hist.*, **2000**, 34, 1135-1154.
- [29] D. R. Vieites, K. C. Wollenberg, F. Andreone, J. Köhler, F. Glaw, M. Vences, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2009**, 106, 8267.
- [30] K. C Wollenberg, D. R Vieites, F. Glaw, M. Vences, *BMC Evol. Biol.*, **2011**, 11, 217.
- [31] J. W. Daly, H. M. Garraffo, T. F. Spande, L.-A. Giddings, R. A. Saporito, D. R. Vieites, M. Vences, *J. Chem. Ecol.*, **2008**, 34, 252-279.
- [32] B. T. Clarke, *Biol. Reviews*, **1997**, 72, 365-379.
- [33] M. Vences, G. Wahl-Boos, S. Hoegg, F. Glaw, E. Spinelli Oliveira, A. Meyer, S. Perry, *Biol. J. Linn. Soc.*, **2007**, 92, 529-539.
- [34] F. Glaw, M. Vences, V. Gossmann, *J. of Natural History*, **2000**, 34, 1135-1154.
- [35] R. A. Saporito, M. A. Donnelly, P. Jain, H. M. Garraffo, T. F. Spande, J. W. Daly, *Toxicon*, **2007**, 50, 757-778.
- [36] J. W. Daly, *J. of Med. Chem.*, **2003**, 46, 445-452.
- [37] R. A. Saporito, M. A. Donnelly, R. Norton, H. M. Garraffo, T. F. Spande, J. W. Daly, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **2007**, 104, 8885-8890.
- [38] J. W. Daly, H. M. Garraffo, G. S. E. Hall, J. F. Cover Jr., *Toxicon*, **1997**, 35, 1131-1135.
- [39] B. P. Smith, M. J. Tyler, T. Kaneko, H. M. Garraffo, T. F. Spande, J. W. Daly, *J. Nat. Prod.*, **2002**, 65, 439-447.
- [40] T. Tokuyama; J. W. Daly, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 3931-3938.
- [41] J. W. Daly, C. W. Myers, J. E. Warnick, E. X. Albuquerque, *Science*, **1980**, 208, 1383-1385.

- [42] J. W. Daly, C. W. Myers, *Science*, **1967**, *156*, 970-973.
- [43] J. W. Daly, T. Tokuyama, T. Fujiwara, R. J. Highet, I. L. Karle, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 830-836.
- [44] J. W. Daly, G. B. Brown, M. Mensah-Dwumah, C. W. Myers, *Toxicon*, **1978**, *16*, 163-188.
- [45] T. F. Spande, J. W. Daly, D. J. Hart, Y.-M. Tsai, T. L. Macdonald, *Experientia*, **1981**, *37*, 1242-1245.
- [46] S. Schulz, *Lipids*, **2001**, *36*, 637-647.
- [47] M. Tanaka, Y. Demizu, M. Nagano, M. Hama, Y. Yoshida, M. Kurihara, H. Suemune, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 7750-7756.
- [48] T. Kitahara, K. Koseki, K. Mori, *Agric. Biol. Chem.*, **1983**, *47*, 389-393.
- [49] G. H. Posner, M. A. Hatcher, W. A. Maio, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 4301-4303.
- [50] R. Chênevert, N. Pelchat, P. Morin, *Tetrahedron: Asymm.*, **2009**, *20*, 1191-1196.
- [51] D. Poth, Masterarbeit, TU Braunschweig, **2008**.
- [52] E. J. Corey, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 5614.
- [53] H. Gerlach, A. Thalmann, *Helv. Chim. Acta.*, **1974**, *57*, 293.
- [54] M. Yu, M. Alonso-Galicia, C. W. Sun, R. J. Roman, N. Ono, H. Hirano, T. Ishimoto, Y. K. Reddy, K. R. Katipally, K. M. Reddy, V. R. Gopal, J. Yu, M. Takhi, J. R. Falck, *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11*, 2803-2821.
- [55] B. P. Moore, W. V. Brown, *Aust. J. Chem.*, **1976**, *29*, 1365-1374.
- [56] D. Poth, K. C. Wollenberg, M. Vences, S. Schulz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 2187-2190.
- [57] D. A. Evans, J. R. Gage, J. L. Leighton, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 9434-9453.
- [58] D. Rost, M. Porta, S. Gessler, S. Blechert, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, 5968-5971.
- [59] R. Xuan, H.-S. Oh, Y. Leeand, H.-Y. Kang, *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 1456-1461.
- [60] S. Monfette, D. E. Fogg, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 3783-3816.
- [61] A. Fürstner, K. Radkowski, C. Wirtz, R. Goddard, C. W. Lehmann, R. Mynott, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 7061-7069.
- [62] K. Gerlach, M. Quitschalle, M. Kalesse, *Synlett*, **1998**, 1108-1110.
- [63] M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 953-956.
- [64] S. B. Garber, A. H. Hoveyda, *e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, **2001**.

- [65] I. C. Stewart, T. Ung, A. A. Pletnev, J. M. Berlin, R. H. Grubbs, J. Schrodi, *Org. Lett.*, **2007**, 9, 1589-1592.
- [66] C. Samojlowicz, M. Bieniek, A. Zarecki, R. Kadyrov, K. Grela, *Chem. Commun.*, **2008**, 6282-6284.
- [67] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Stryer Biochemie*, 6. Auflage, Elsevier München, **2007**, 687-688.
- [68] K. Mori, *Tetrahedron*, **2008**, 64, 4060-4071.
- [69] R. N. Patel, A. Banerjee, V. Nanduri, A. Goswami, F. T. Comezoglu, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **2000**, 77, 1015-1019.
- [70] Y. Nakamura, K. Mori, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 9, 2175-2182.
- [71] R. P. Adams, *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry*, 4th Edition, Allured Books, **2007**.
- [72] G. Brasse, Dissertation, TU Braunschweig, **2005**.
- [73] E. N. Rittmeyer, A. Allison, M. C. Gründler, D. K. Thompson, C. C. Austin, *PLoS One*, **2012**, 7, e29797.
- [74] B. P. Noonan, A. A. Comeault, *Biol. Lett.*, **2009**, 5, 51-54.
- [75] J. W. Daly, T. F. Spande, H. M. Garraffo, *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 1556-1575.
- [76] R. A. Saporito, H. M. Garraffo, M. A. Donnelly, A. L. Edwards, J. T. Longino, J. W. Daly, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **2004**, 101, 8045-8050.
- [77] A. Rodríguez, D. Poth, S. Schulz, M. Vences, *Biol. Lett.*, **2011**, 7, 414-418.
- [78] S. B. Hedges, W. E. Duellman, M. P. Heinicke, *Zootaxa*, **2008**, 1737, 1-182.
- [79] B. Sontag, M. RÜth, P. Spiteller, N. Arnold, W. Steglich, M. Reichert, G. Bringmann, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 1023-1033.
- [80] N. N. Doan, T. N. Le, H. C. Nguyen, P. E. Hansen, F. Duus, *Molecules*, **2007**, 12, 2080-2088.
- [81] K. Mori, T. Tashiro, B. Zhao, D. M. Suckling, A. M. El-Sayed, *Tetrahedron*, **2010**, 66, 2642-2653.
- [82] A. B. Smith III, Y. S. Cho, G. K. Friestad, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 8765-8768.
- [83] Autorenkollektiv: *Organikum*, 19. Auflage, Barth, Dt. Verl. der Wiss., **1993**, 512.
- [84] M. Oikawa, T. Ueno, H. Oikawa, A. Ichihara, *J. Org. Chem.*, **1996**, 60, 5048-5068.
- [85] S. Elzner, D. Schmidt, D. Schollmeyer, G. Erkel, T. Anke, H. Kleinert, U. Förstermann, H. Kunz, *ChemMedChem*, **2008**, 3, 924-939.
- [86] R. Pappo, D. S. Allen, R. U. Lemieux, W. S. Johnson, *J. Org. Chem.*, **1956**, 21, 478-479

- [87] T. Yoshimitsu, T. Makino, H. Nagaoka, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 1993-1998.
- [88] M. Gallant, M. Belley, M.-C. Carrière, A. Chateaneuf, D. Denis, N. Lachance, S. Lamontagne, K. M. Metters, N. Sawyer, D. Slipetz, J. F. Truchon, M. Labelle, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 3813-3816.
- [89] K. Mori, *Tetrahedron: Asymm.*, **2007**, 18, 838-846.
- [90] Autorenkollektiv: *Organikum*, 19. Auflage, Barth, Dt. Verl. der Wiss., **1993**, 432.
- [91] J. Patel, J. C. Hoyt, R. J. Parry, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 15927-15936.
- [92] Autorenkollektiv: *Organikum*, 19. Auflage, Barth, Dt. Verl. der Wiss., 1993, 420.
- [93] J. Klimentová, P. Kosák, K. Vávrová, T. Holas, A. Hrabálek, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 7681-7687.
- [94] E. M. Stang, M. C. White, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 14892-14895.
- [95] D. Ager, S. Babler, D. E. Froen, S. A. Laneman, D. P. Pantaleone, I. Prakash, B. Zhi, *Org. Process Research and Development*, **2003**, 7, 369-378.
- [96] I. Paterson, F. A. Muhlthau, C. J. Cordier, M. P. Housden, P. M. Burton, O. Loiseleur, *Org. Lett.*, **2009**, 11, 353-356.
- [97] T. Honda, S. Yamane, F. Ishikawa, M. Katoh, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 12177-12184.
- [98] B. W. Babcock, D. R. Dimmel, D. P. Graves Jr., *J. Org. Chem.*, **1981**, 4, 736-742.
- [99] D. S. Dodd, A. C. Oehlschlager, *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 226-7234.
- [100] R. M. Coates, S. K. Shah, R. W. Mason, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 2198-2208.
- [101] E. J. Eisenbraun, *Org. Syntheses*, **1965**, 45, 28-32.
- [102] J. Rodstein, J. S. McElfresh, J. D. Barbour, A. M. Ray, L. M. Hanks, J. G. Millar, *J. Chem. Ecol.*, **2009**, 35, 590-600.
- [103] T. Rezanka, K. Sigler, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 18, 4277-4284.
- [104] R. Kuwano, K. Uchida, Y. Ito, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 2177-2180.
- [105] F. Colobert, S. Choppin, L. Ferreiro-Mederos, M. Obringer, S. L. Arratta, A. Urbano, M. C. Carreno, *Org. Lett.*, **2007**, 9, 4451-4454.
- [106] J. Shin, O. Gerasimov, D. H. Thompson, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 6503-6508.
- [107] B. H. Han, P. Boudjouk, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 2757-2758.
- [108] B. B. Snider, H. Lin, *Org. Lett.*, **2000**, 2, 643-646.
- [109] M. Tori, K. Hisazumi, T. Wada, M. Sono, K. Nakashima, *Tetrahedron Asymm.*, **1999**, 10, 961-971.

7 ABKÜRZUNGEN

[α]	Drehwert
br.	breites Signal
COSY	Correlated Spectroscopy
δ	Chemische Verschiebung
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ee	Enantiomerenüberschuss
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EI	Electron Impact
Et	Ethyl
FG	Inkrement für die funktionelle Gruppe
GC	Gaschromatographie
GC/MS	mit Gaschromatographie gekoppelte Massenspektrometrie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
J	Kopplungskonstante
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
LDA	Lithiumdiisopropylamin
M	Multipllett
[M] ⁺	Molekularion
<i>m</i> CPBA	<i>m</i> -Chlorperbenzoesäure
Me	Methyl
ME	Inkrement für die Methylverzweigungsposition
MS	Massenspektrometrie
MSTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(trimethylsilyl)-2,2,2-trifluoracetamid
m/z	Masse pro Elementarladung

NaHMDS	Natriumhexamethyldisilylamid
<i>n</i> BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NMR	Kernresonanzspektroskopie
OAc	Acetat
ppm	parts per million
<i>p</i> TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
PTX	Pumiliotoxin
q	Quartett
R _f	ratio of fronts
RI	Retentionsindex
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
sxt	Sextett
t	Triplett
TBDMS	<i>tert.</i> -Butyldimethylsilyl
TBME	<i>tert.</i> -Butylmethylether
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilan
TsCl	<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid
u	Atomare Masseneinheit

8 ANHANG

8.1 NMR-Spektren der natürlichen Verbindungen

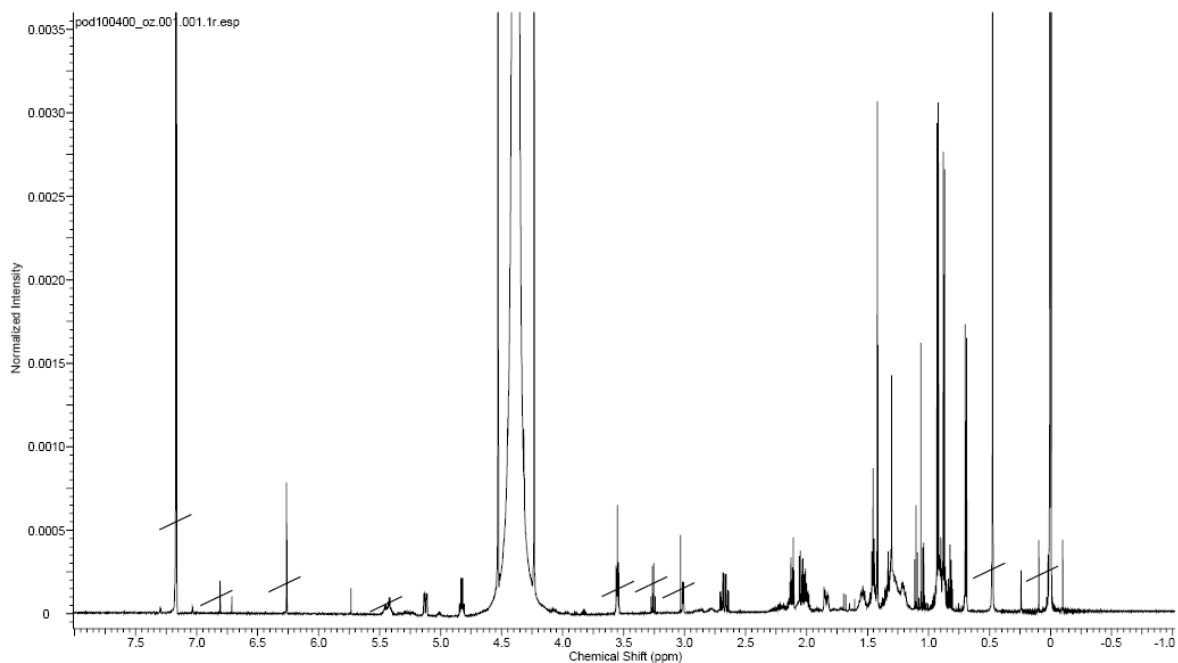


Abbildung A1: ^1H -NMR-Spektrum des natürlichen Gephyromantolid B in C_6D_6 .

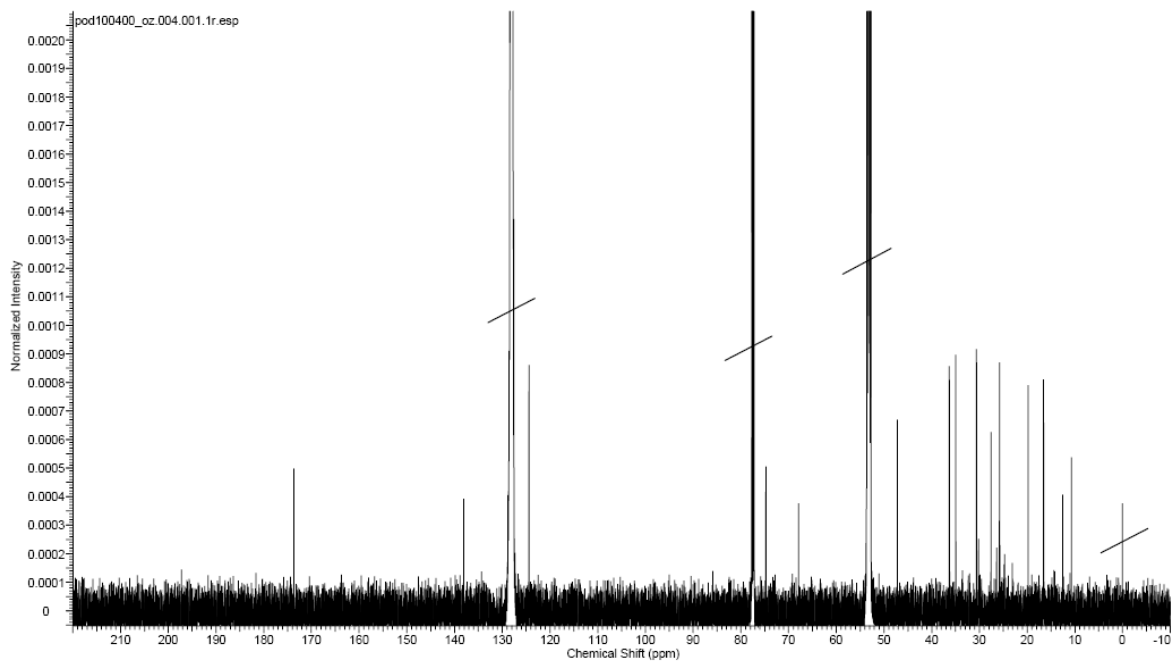


Abbildung A2: ^{13}C -NMR-Spektrum des natürlichen Gephyromantolid B in C_6D_6 .

pod100400_oz.009.001.2rr.esp

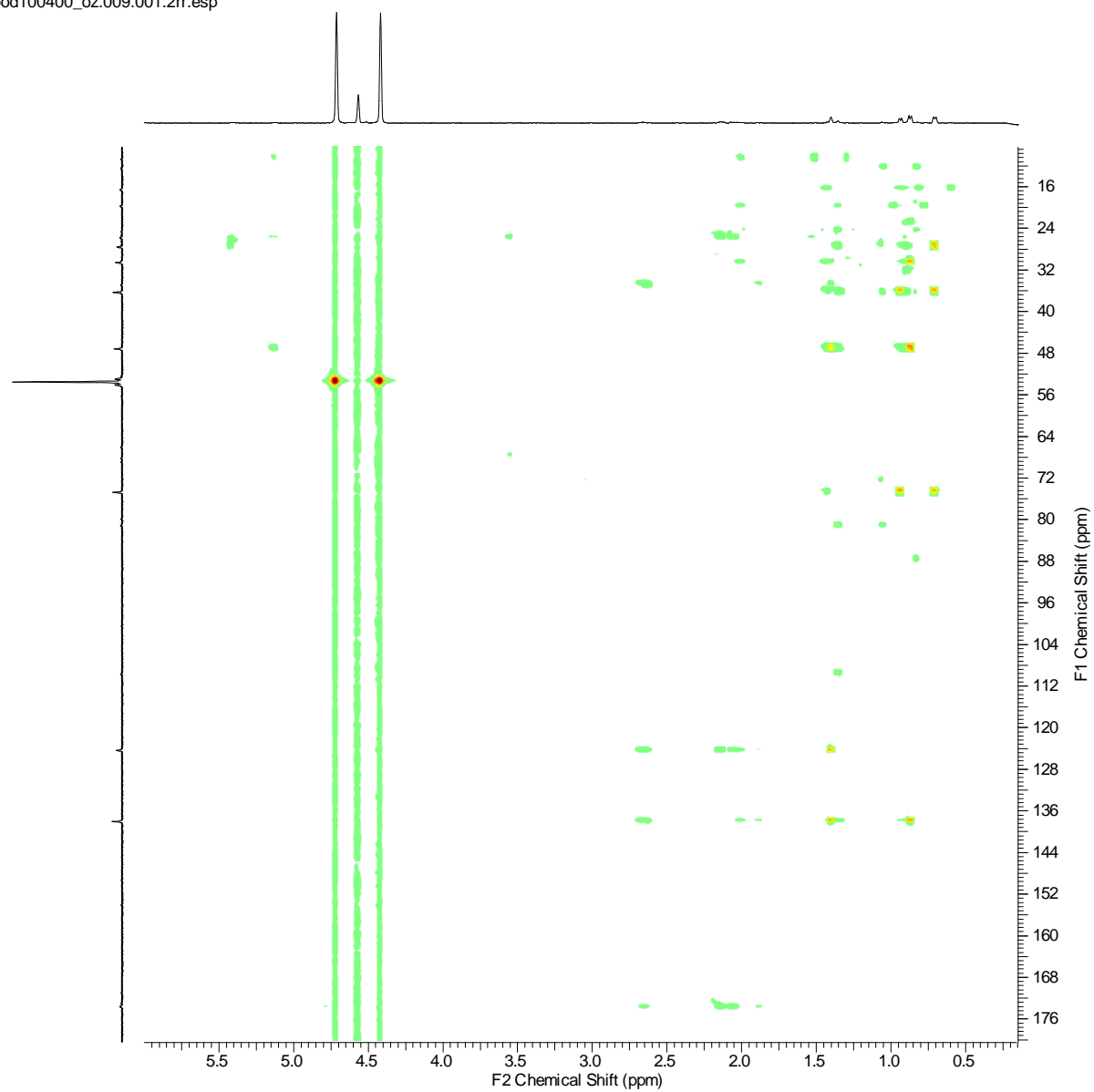


Abbildung A3: HMBC des natürlichen Gephyromantolid B in C₆D₆.

pod100400_oz.007.001.2rr.esp

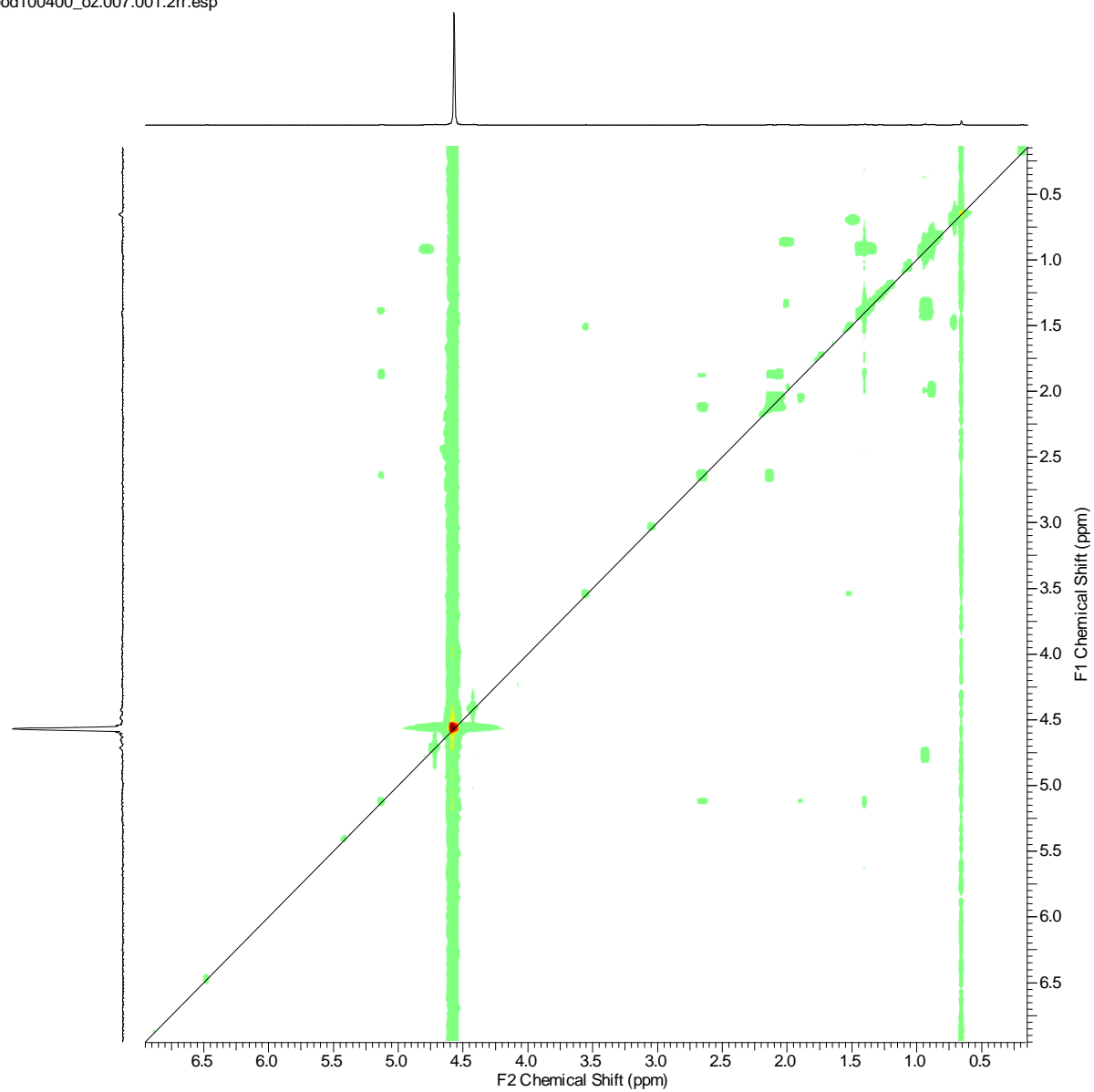


Abbildung A4: ^1H , ^1H -COSY des natürlichen Gephyromantolid B in C_6D_6 .

pod100400_oz.008.001.2rr.esp

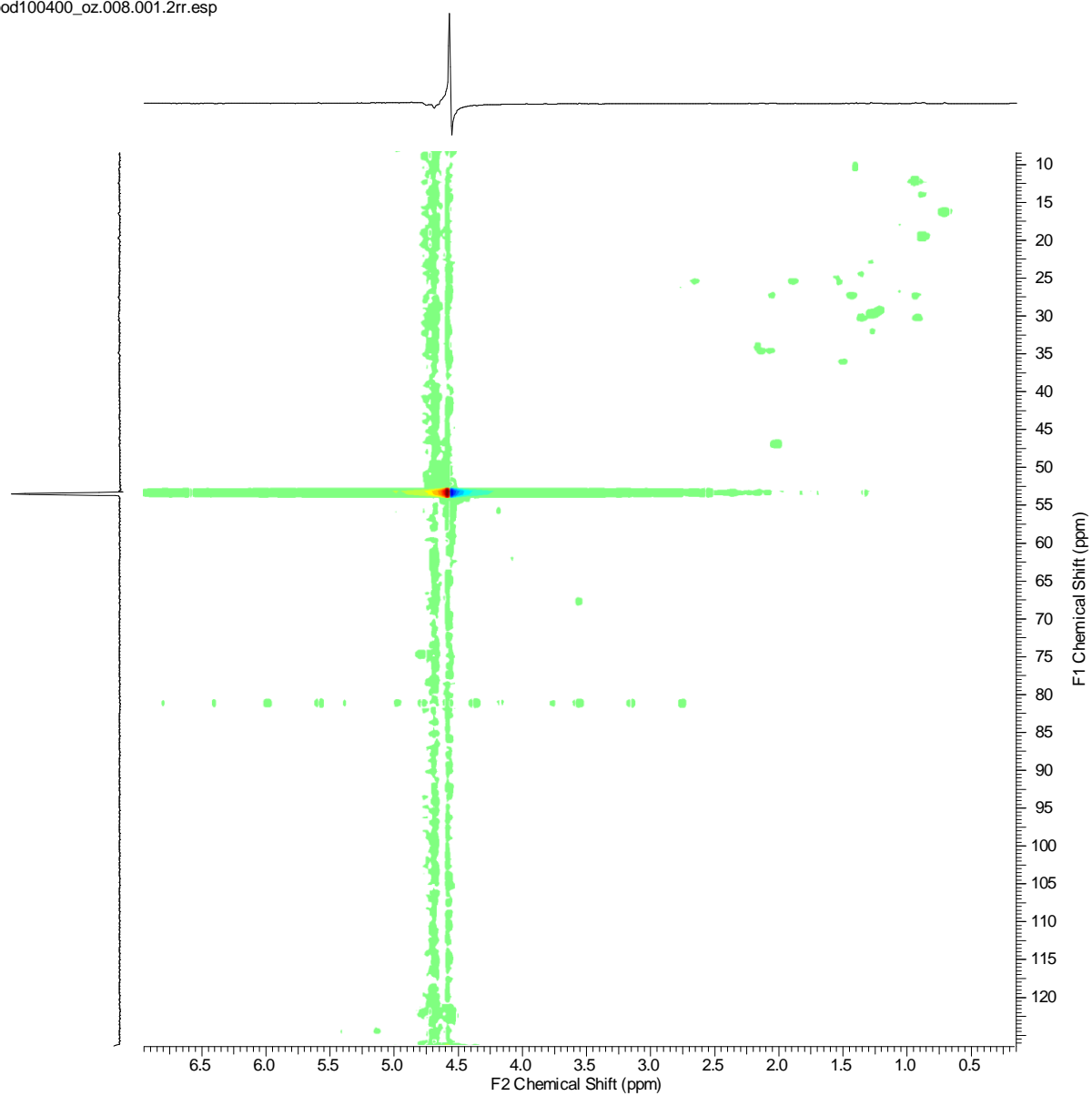


Abbildung A5: HSQC des natürlichen Gephyromantolid B in C₆D₆.

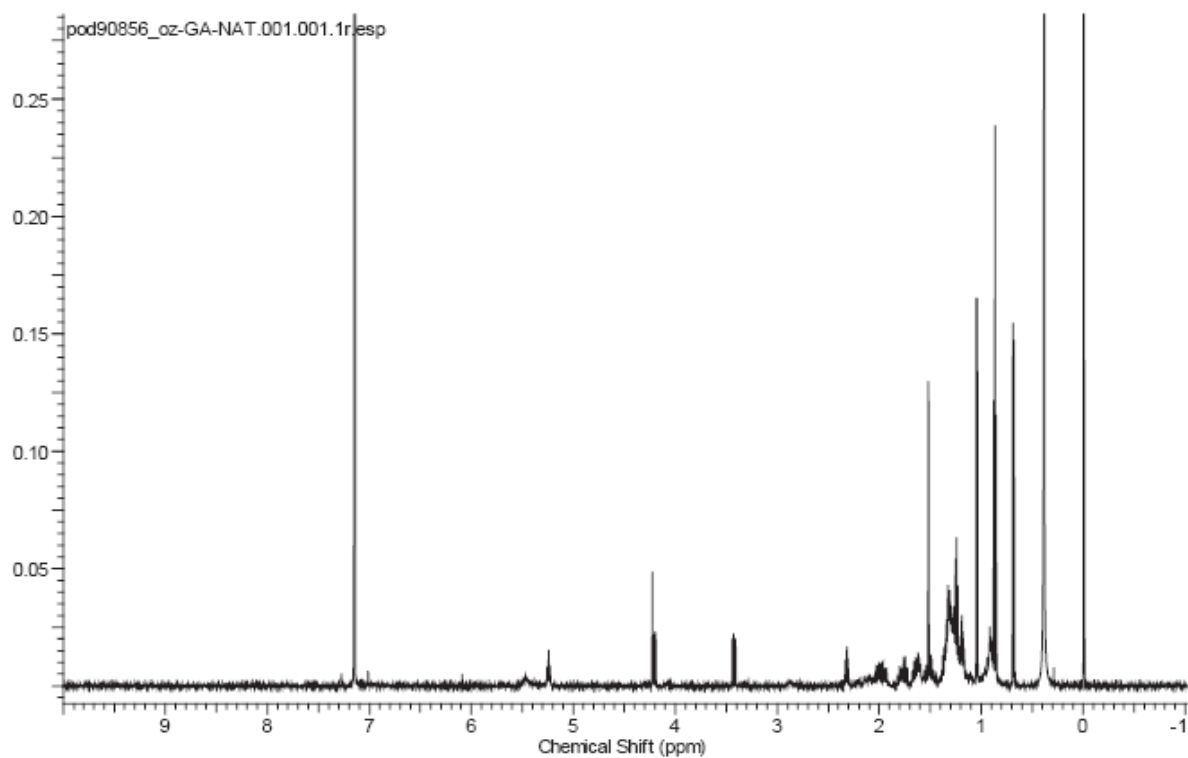


Abbildung A6: ^1H -NMR-Spektrum des natürlichen Gephyromantolid A in C_6D_6 .

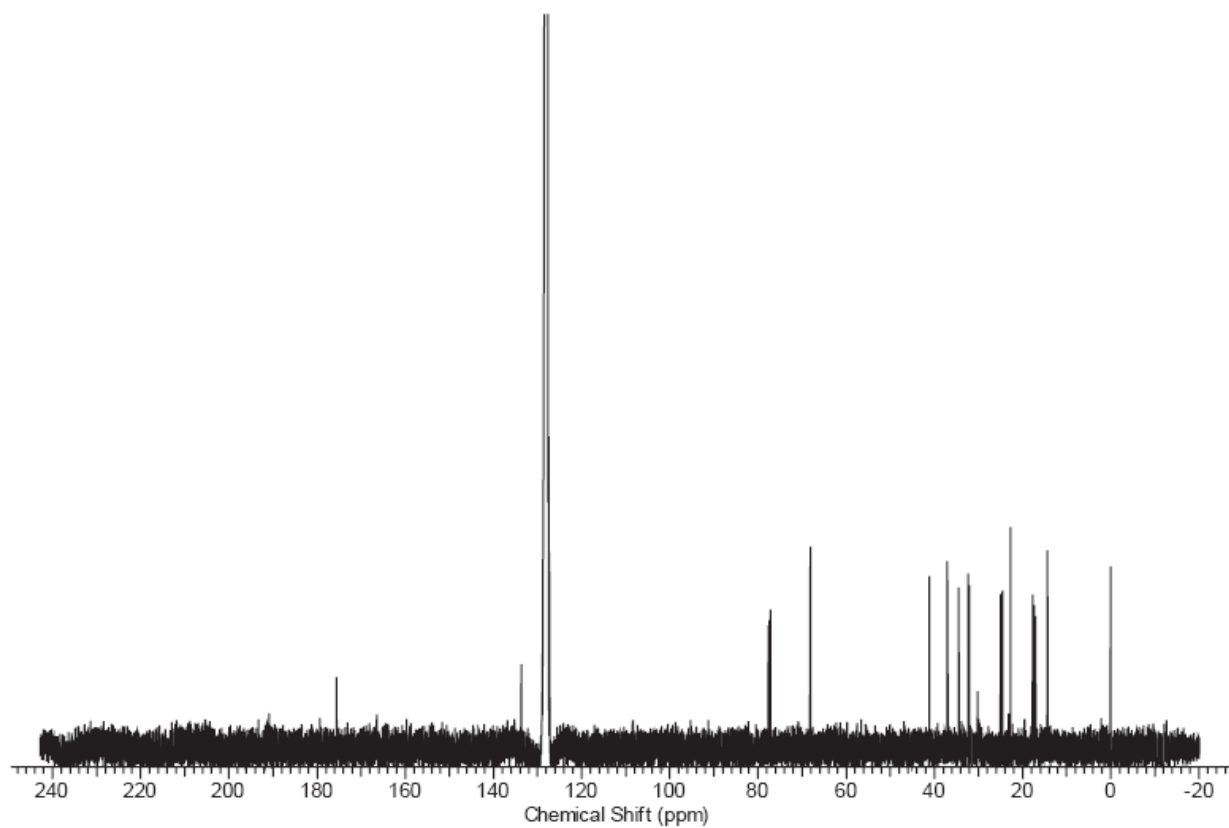


Abbildung A7: ^{13}C -NMR-Spektrum des natürlichen Gephyromantolid A in C_6D_6 .

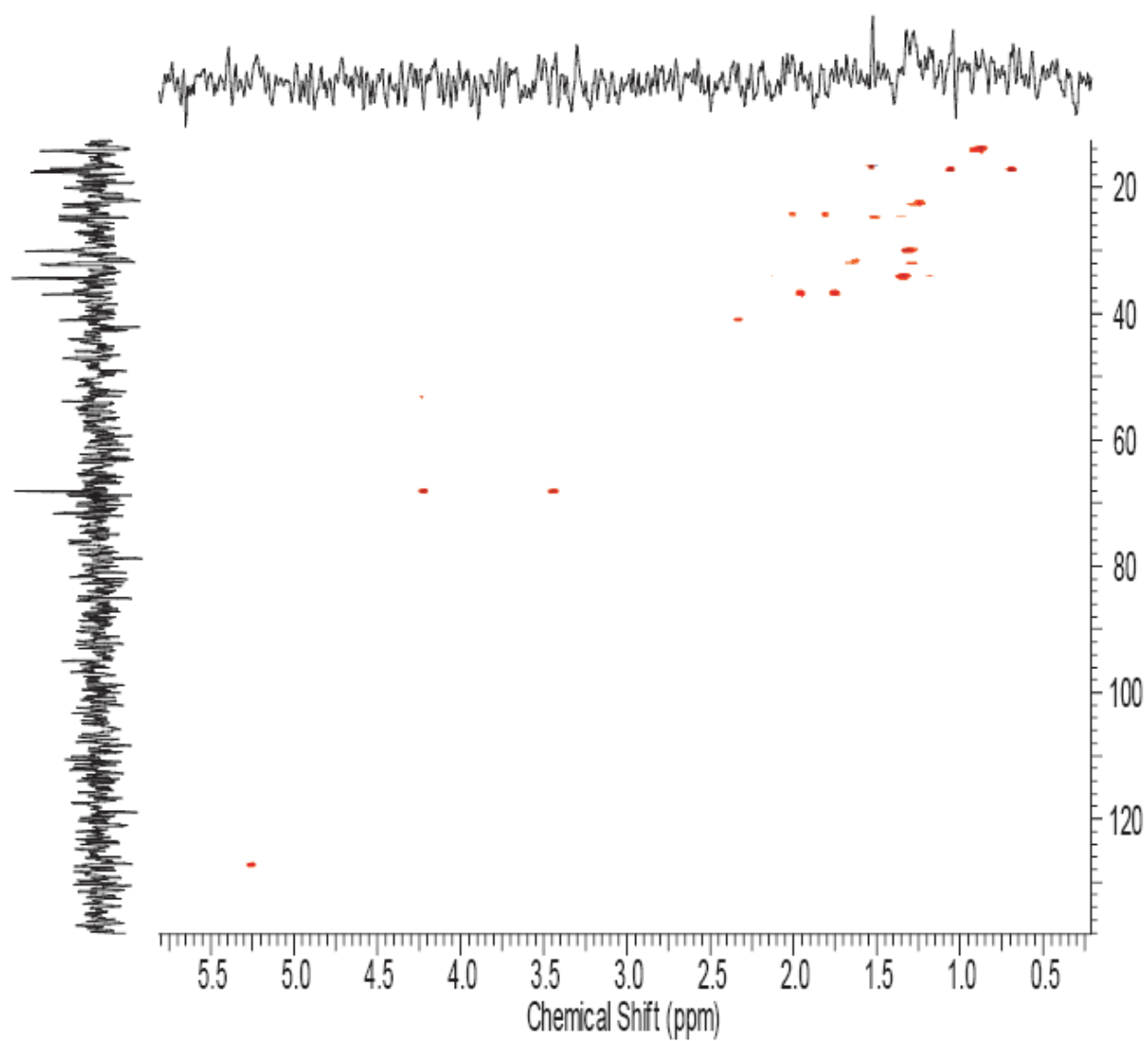


Abbildung A8: HSQC des natürlichen Gephyromantolid A in C₆D₆.

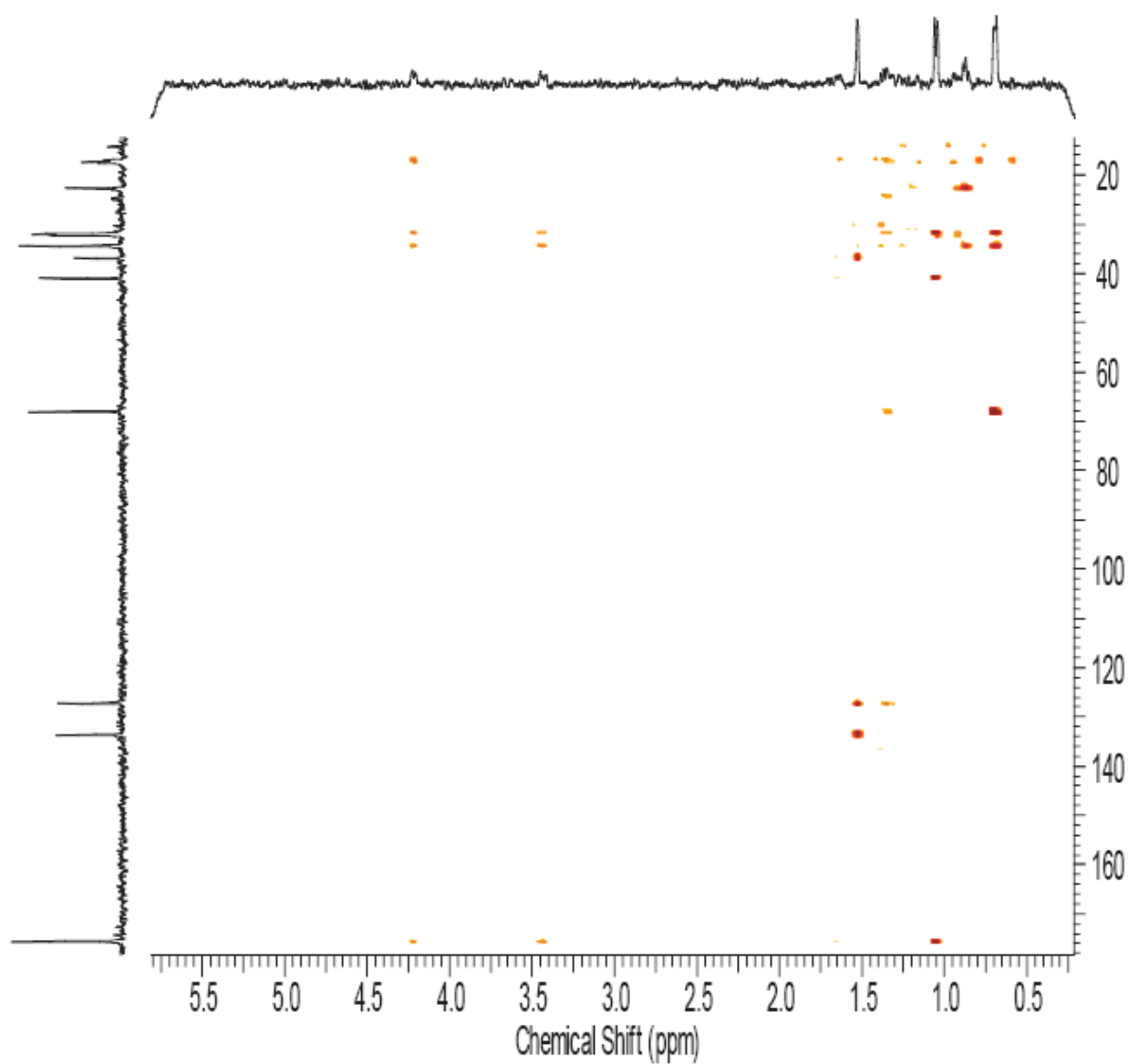


Abbildung A9: HMBC des natürlichen Gephyromantolid A in C₆D₆.

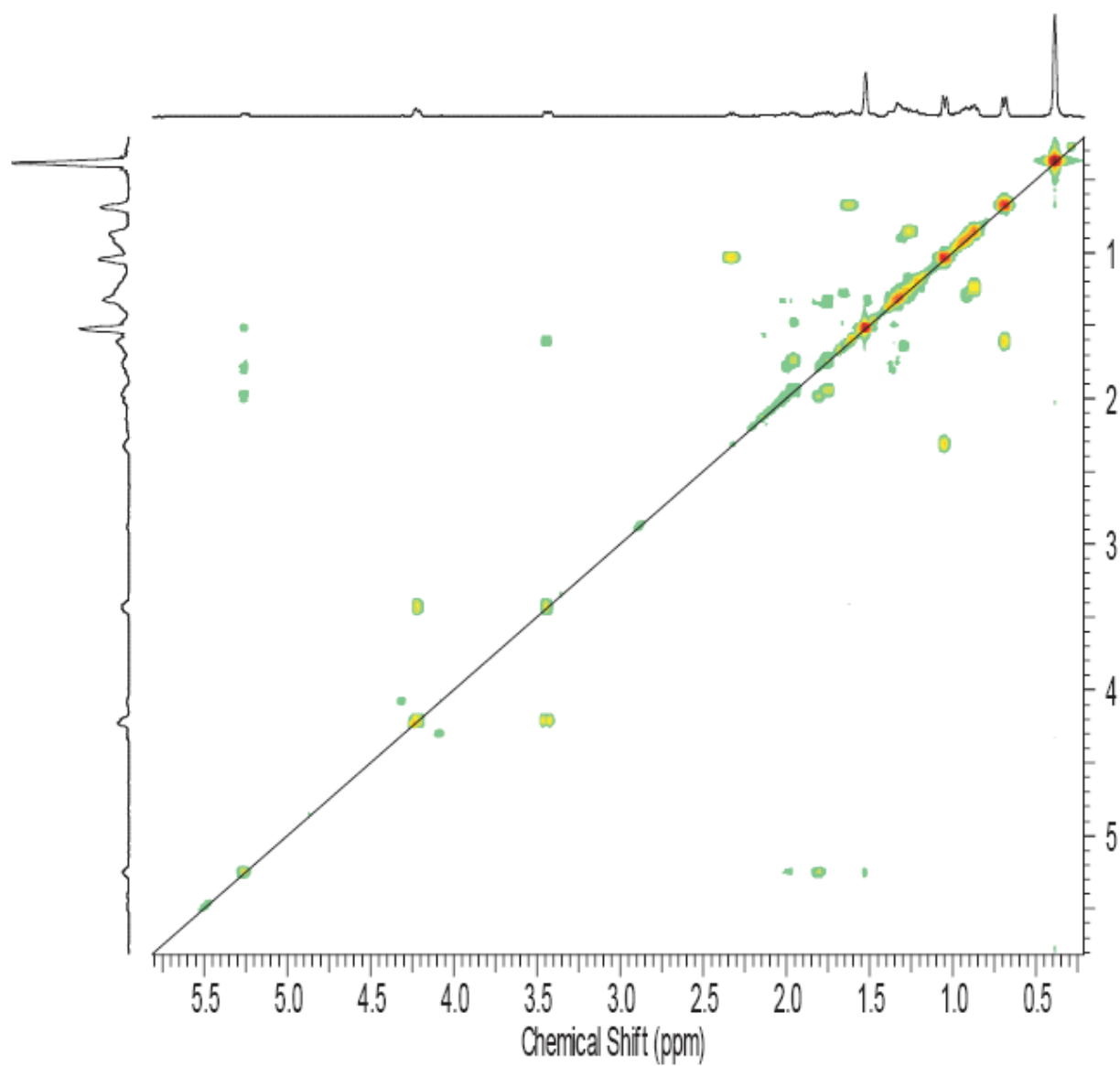


Abbildung A10: $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY des natürlichen Gephyromantolid A in C_6D_6 .

8.2 NMR-Spektren der synthetischen Zielmoleküle

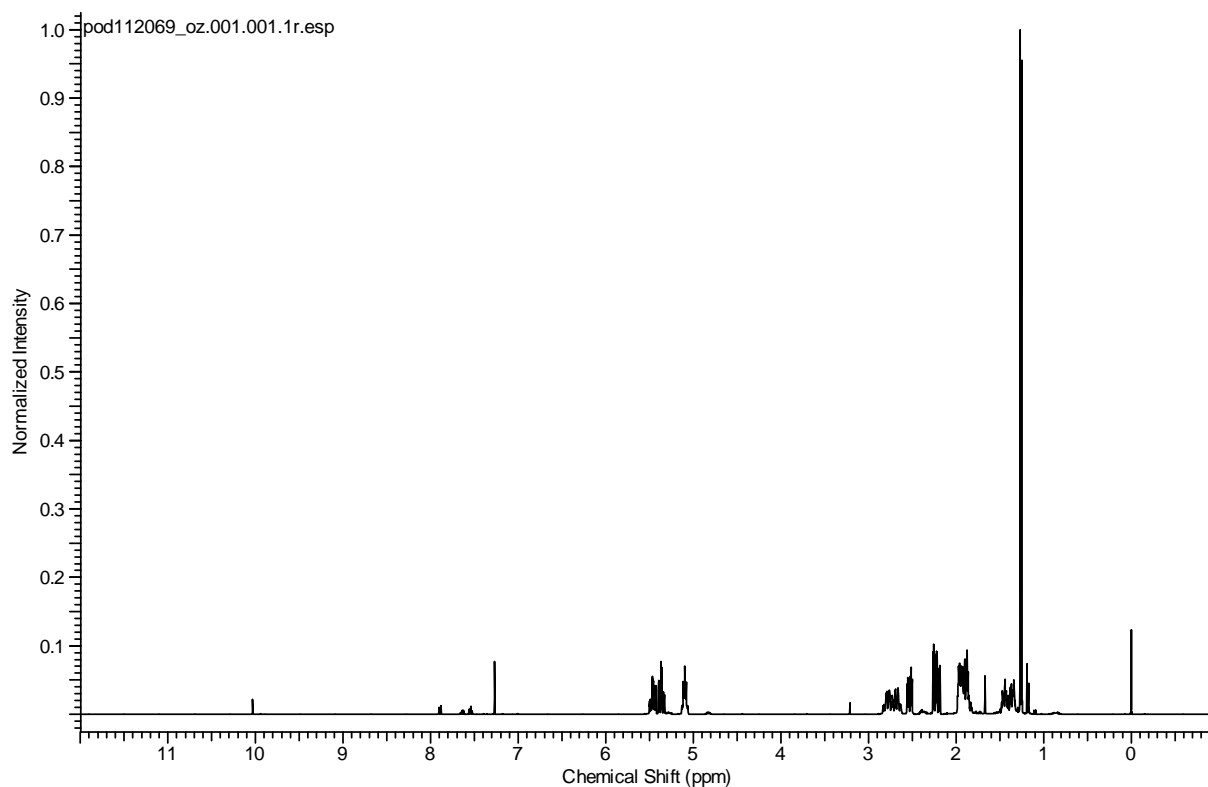


Abbildung A11: ^1H -NMR-Spektrum von (S)-Phoracantholid J in CDCl_3

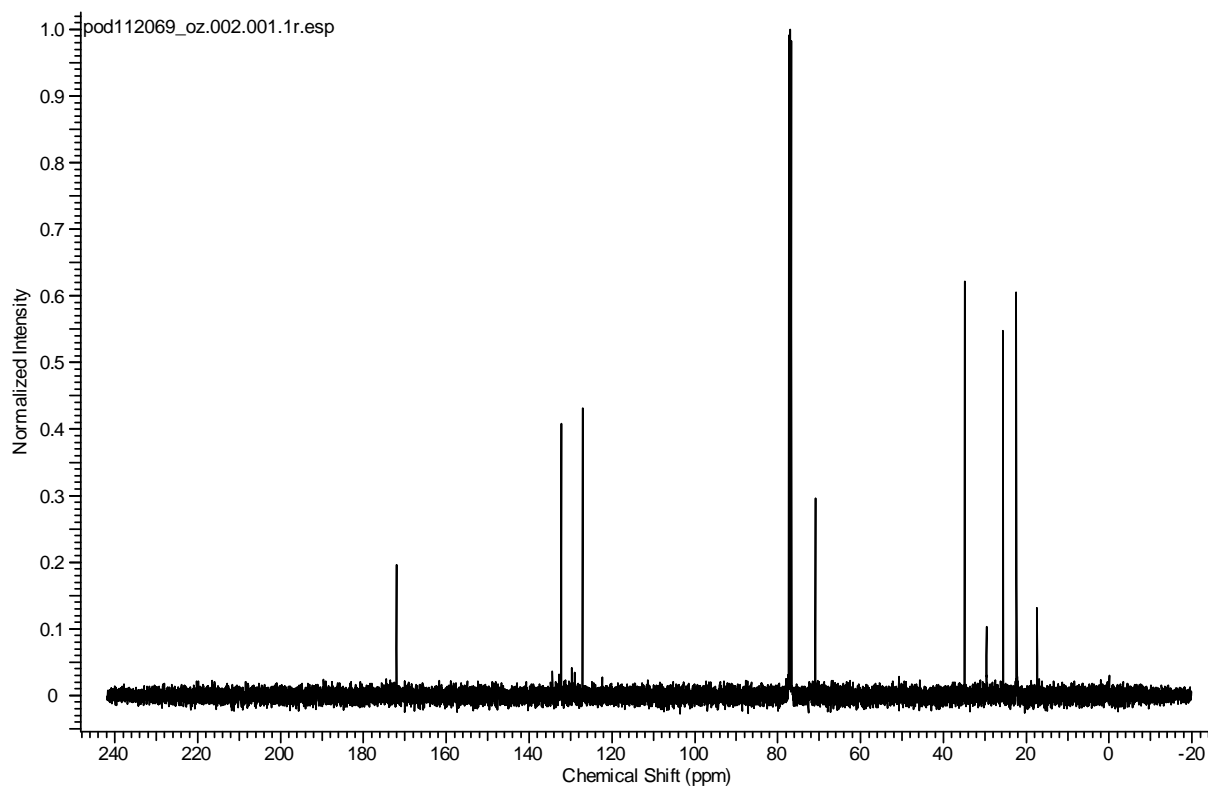


Abbildung A12: ^{13}C -NMR-Spektrum von (S)-Phoracantholid J in CDCl_3

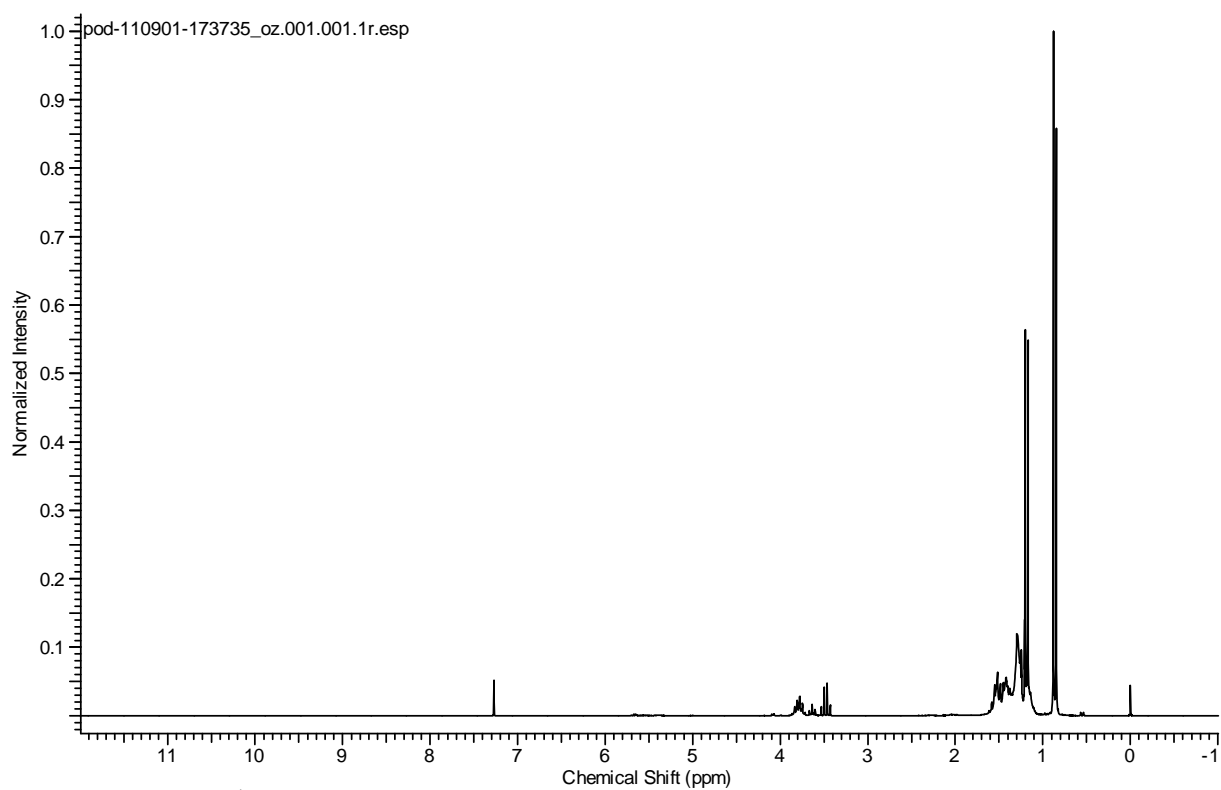


Abbildung A13: ^1H -NMR-Spektrum von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol in CDCl_3

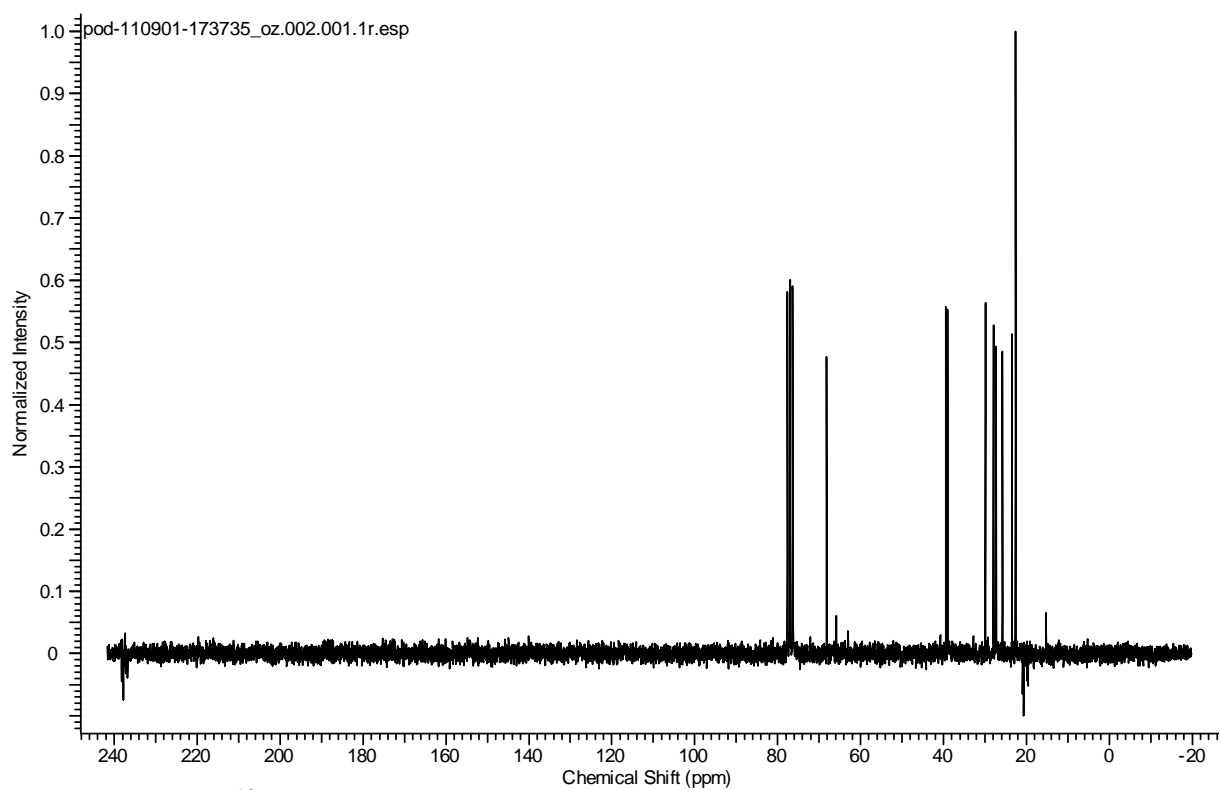


Abbildung A14: ^{13}C -NMR-Spektrum von (*R*)-8-Methylnonan-2-ol in CDCl_3

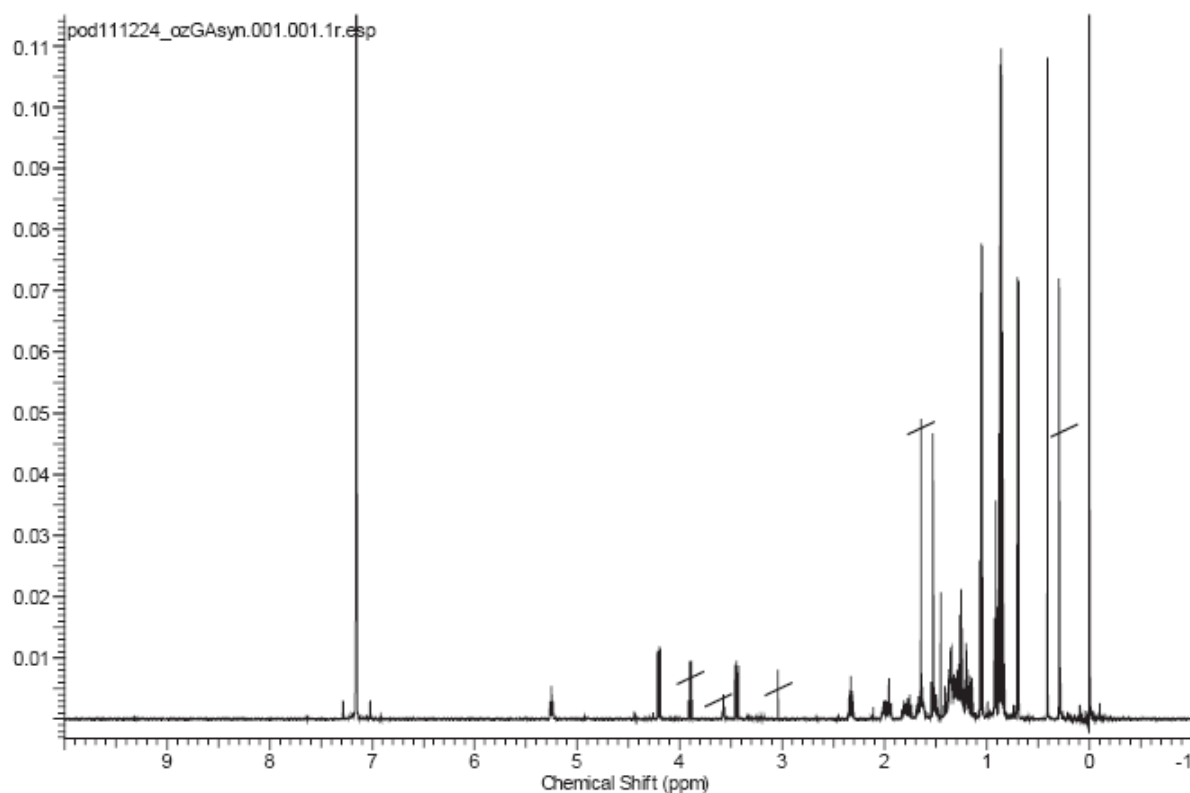


Abbildung A15: ^1H -NMR-Spektrum von Gephyromantolid A in C_6D_6

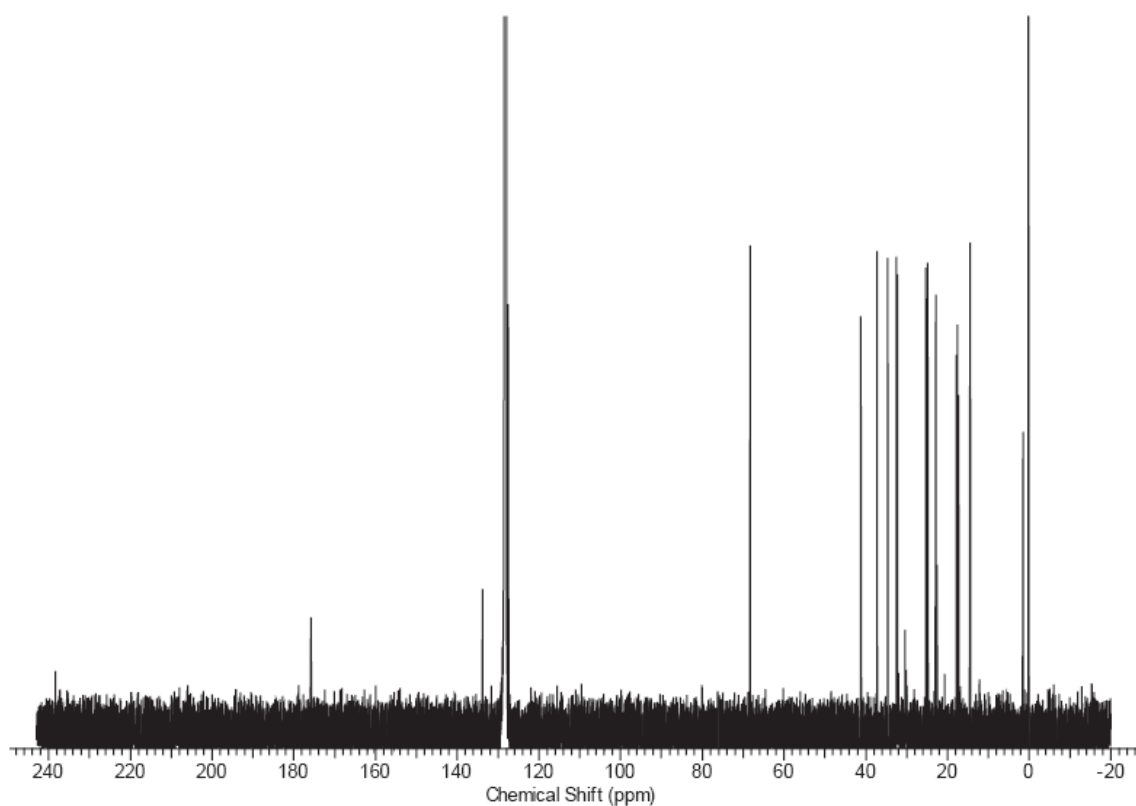


Abbildung A16: ^{13}C -NMR-Spektrum von Gephyromantolid A in C_6D_6

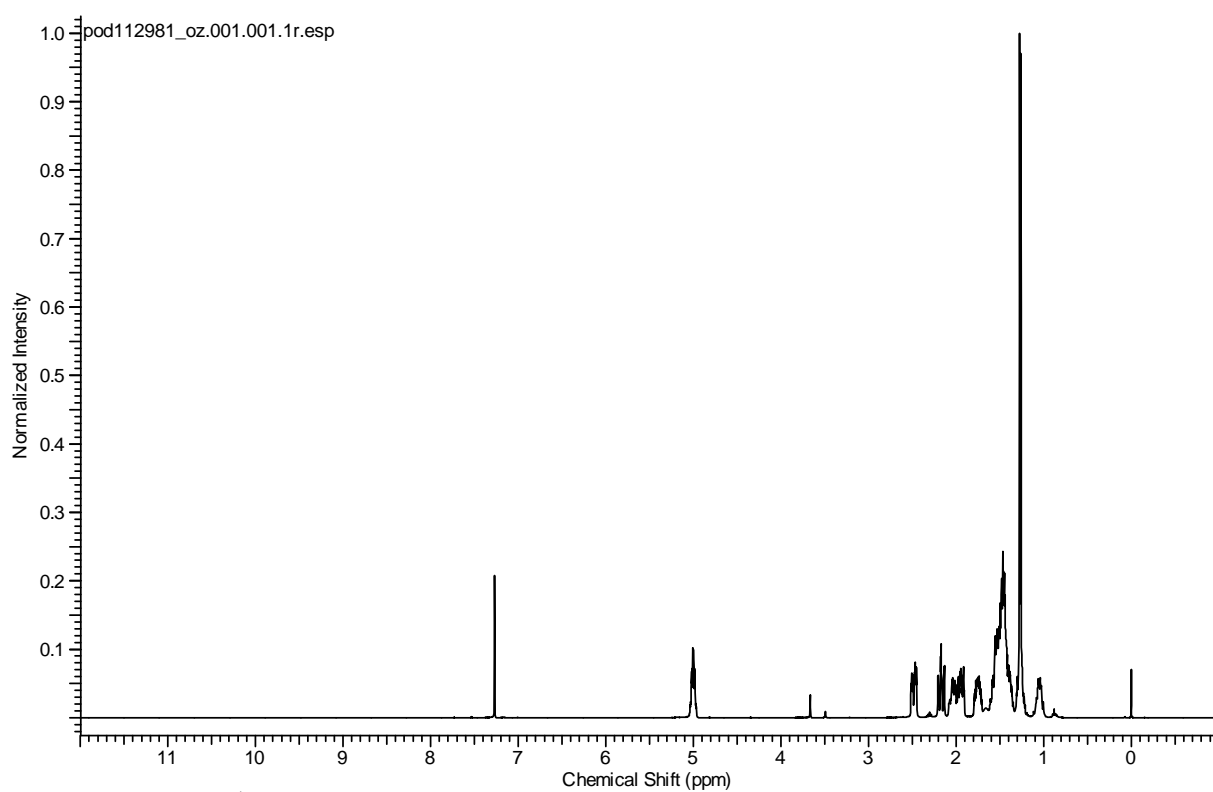


Abbildung A17: ^1H -NMR-Spektrum von (*S*)-Phoracantholid I in CDCl_3

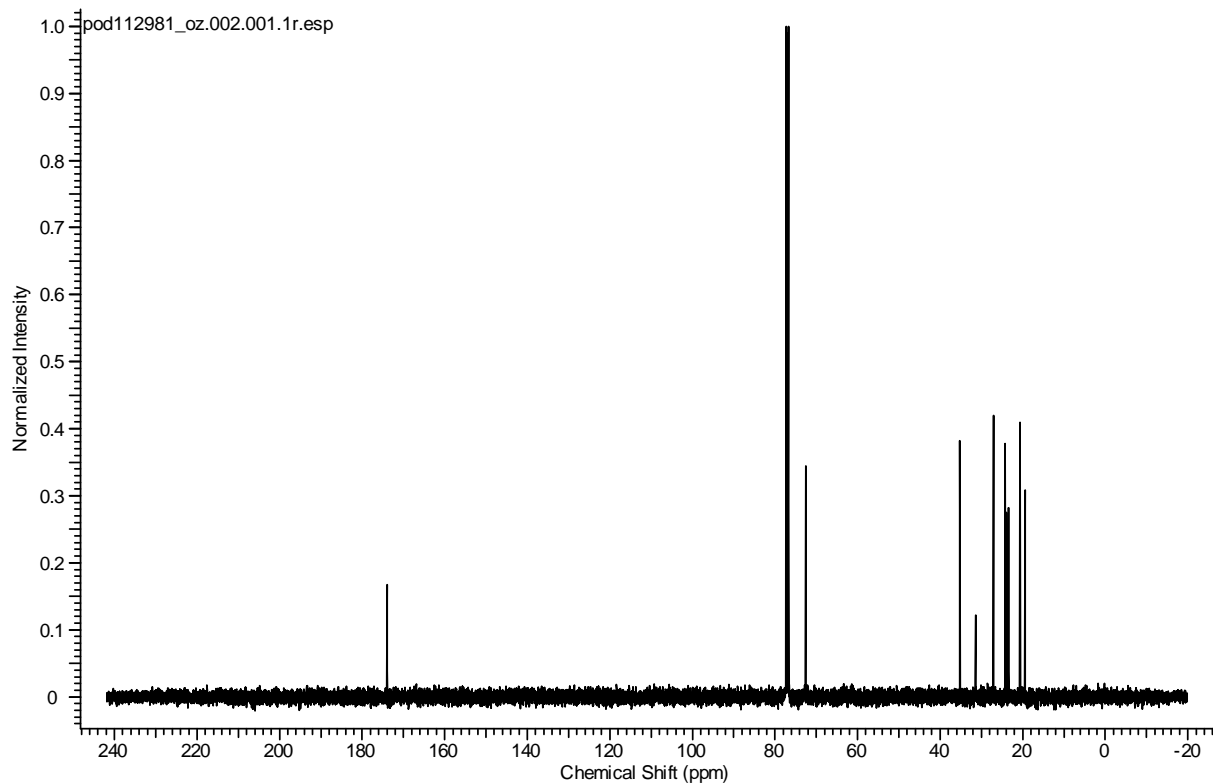


Abbildung A18: ^{13}C -NMR-Spektrum von (*S*)-Phoracantholid I in CDCl_3

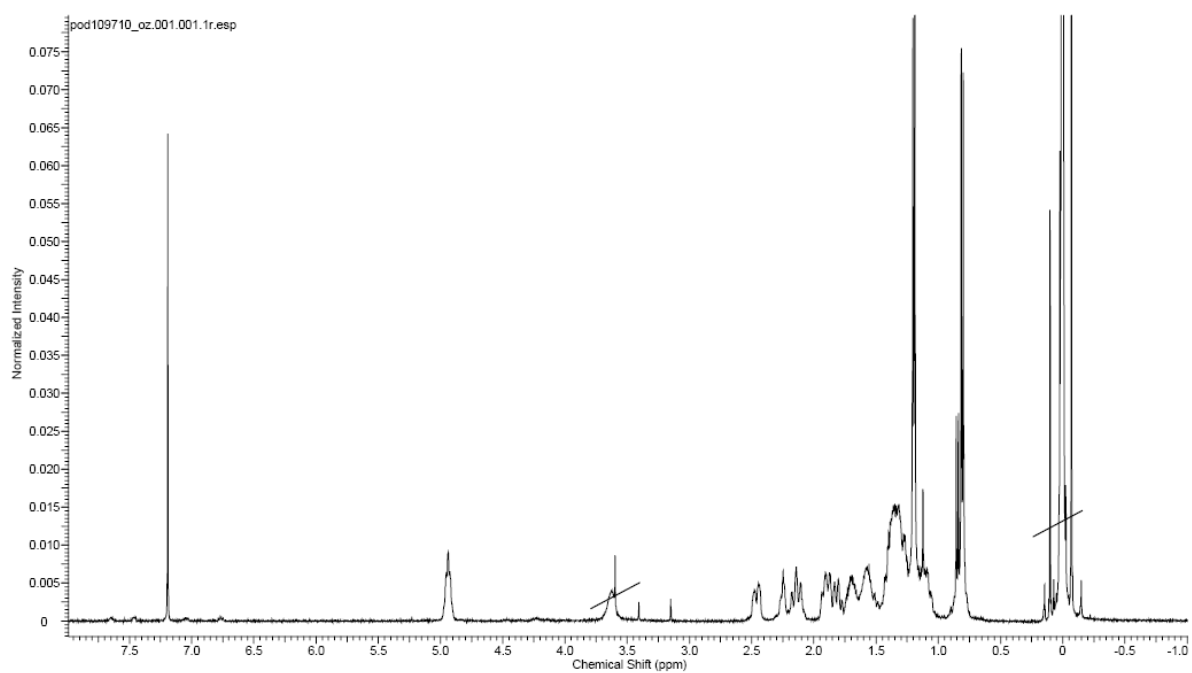


Abbildung A19: ^1H -NMR-Spektrum von Mantidactolid A in CDCl_3

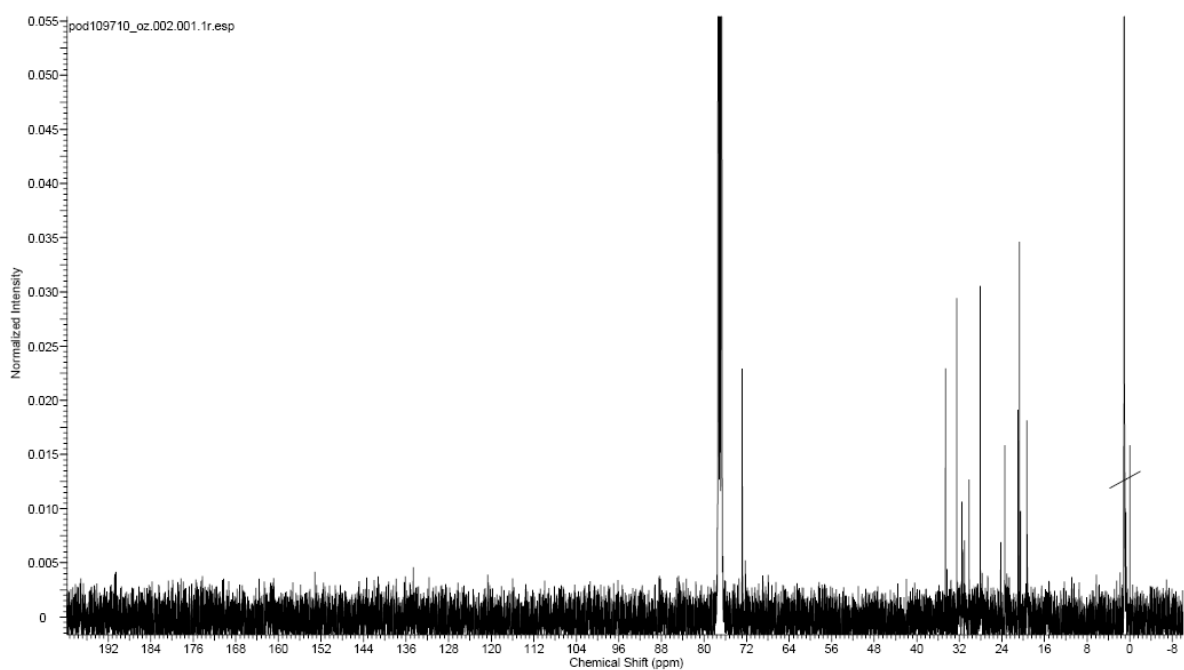


Abbildung A20: ^{13}C -NMR-Spektrum von Mantidactolid A in CDCl_3

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Stefan Schulz danke ich für die Überlassung des Themas, die stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft und die freundliche Aufnahme in den Arbeitskreis.

Den Mitgliedern des Arbeitskreises Ulrike Groenhagen, Thies Marten Schulze, Insa Bergmann, Verena Thiel, Hilke Bruns, Jasmin Müller, Thorben Nawrath, Michael Kostka, Subhash Kumar Surapaneni, Pardha Saradhi, Michael Maczka, Alexander Neumann, Martin Stürminger, Julia Kiefer, Florian Mann, Anna-Lena Hartmann, Susann Hötling, Srinivas Ravella und Witali Schmidt danke ich für die Hilfsbereitschaft und die freundliche und angenehme Arbeitsatmosphäre.

Den Kooperationspartner Herrn Prof. Dr. Miguel Vences und Herrn Dr. Ariel Rodriguez danke ich für die gute Zusammenarbeit und die Bereitstellung der Proben.

Meinen zahlreichen PraktikantInnen danke ich für ihren Fleiß und ihre Produktivität.

Den Mitarbeitern der NMR-Abteilung, Frau Dr. Kerstin Ibrom und Frau Petra Holba-Schulz, danke ich für die Aufnahme zahlreicher und zeitintensiver Spektren.

Den Mitarbeitern der Massenspektrometrischen Abteilung, Herrn Dr. Till Beuerle und Herrn Dr. Ullrich Papke, danke ich für die Messung der hochaufgelösten Massenspektren.

Den technischen Angestellten der Universität danke ich für die freundliche Unterstützung.

Meinen Freunden und meiner Familie danke ich für die Motivation und den Rückhalt.